

REPUBLIQUE DE CÔTE D'IVOIRE

UNION – DISCIPLINE – TRAVAIL

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE FELIX HOUPHOUËT BOIGNY



UFR SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES

Année : 2012 – 2013

THESE

N° 1581/13

Présentée en vue de l'obtention du

**DIPLOME D'ETAT DE  
DOCTEUR EN PHARMACIE**

Par

**SOMBIE ABOU**

**Evaluation d'un algorithme de dépistage du VIH utilisant trois tests rapides (Determine HIV1/2<sup>®</sup> de Alere, Genie III HIV-1/HIV-2<sup>®</sup> de BIO-RAD et Stat-Pak HIV1/2<sup>®</sup> de Chembio) : Etude en phase II réalisée à l'IPCI, au CePreF et au CNTS. (Abidjan, Côte d'Ivoire, 2013).**

*Soutenue publiquement le 13 Août 2013*

**Composition du jury**

<b>Président</b>	: Monsieur <b>KOUADIO Kouakou Luc</b> , Professeur Titulaire
<b>Directeur de thèse</b>	: Monsieur <b>INWOLEY Kokou André</b> , Professeur Agrégé
<b>Assesseurs</b>	: Monsieur <b>NANGA Yessé Zinzendorf</b> , Professeur Agrégé Monsieur <b>AHIBOH Hugues</b> , Professeur Agrégé

**ADMINISTRATION ET PERSONNEL**  
**ENSEIGNANT DE L'UFR**  
**SCIENCES PHARMACEUTIQUES**  
**ET BIOLOGIQUES**

## **I. HONORARIAT**

Directeurs/Doyens Honoraires :	Professeur RAMBAUD André
	Professeur FOURASTE Isabelle
	Professeur BAMBA Moriféré
	Professeur YAPO Abbé †
	Professeur MALAN Kla Anglade
	Professeur KONE Moussa †

## **II. ADMINISTRATION**

Directeur	Professeur ATINDEHOU Eugène
Sous-Directeur Chargé de la Pédagogie	Professeur Ag INWOLEY Kokou André
Sous-Directeur Chargé de la Recherche	Professeur Ag OGA Agbaya Serge
Secrétaire Principal	Monsieur BLAY Koffi
Secrétaire Principal Adjoint	Madame AKE Kouadio Api Eugénie
Documentaliste	Monsieur N'GNIMMIEN Koffi Lambert
Intendant	Monsieur GAHE Alphonse
Responsable de la Scolarité	Madame DJEDJE Yolande

## **III. PERSONNEL ENSEIGNANT PERMANENT**

### **1. PROFESSEURS TITULAIRES**

Mme	AKE Michèle	Chimie Analytique
M	ATINDEHOU Eugène	Chimie Analytique, Bromatologie
Mme	ATTOUNGBRE HAUHOUOT M.L.	Biochimie et Biologie Moléculaire
	KONE BAMBA Diéneba	Pharmacognosie
MM	KOUADIO Kouakou Luc	Hydrologie, Santé Publique

MALAN Kla Anglade	Chimie Ana., contrôle de qualité
MENAN Eby Ignace	Parasitologie - Mycologie
MONNET Dagui	Biochimie et Biologie Moléculaire
YOLOU Séri Fernand	Chimie Générale

## 2.MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

MM	ABROGOUA Danho Pascal	Pharmacologie
	AHIBOH Hugues	Biochimie et Biologie moléculaire
	DANO Djédjé Sébastien	Toxicologie.
Mme	AKE EDJEME N'guessan Angèle	Biochimie et Biologie moléculaire
MM	INWOLEY Kokou André	Immunologie
	KABLAN Brou Jérôme	Pharmacologie
	KOFFI Angely Armand	Pharmacie Galénique
Mme	KOUAKOU SIRANSY N.	Pharmacologie
MM	KOUASSI Dinard	Hématologie
	LOUKOU Yao Guillaume	Bactériologie-Virologie
	OGA Agbaya Stéphane	Santé publique et Economie de la santé
	OUATTARA Mahama	Chimie thérapeutique
Mme	SAWADOGO Duni	Hématologie
MM	YAPI Ange Désiré	Chimie organique, chimie thérapeutique
	YAVO William	Parasitologie - Mycologie
	ZINZENDORF Nanga Yessé	Bactériologie-Virologie

### **3.MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIES**

M DIAFOUKA François Biochimie et Biologie de la Reproduction

### **4.MAITRES ASSISTANTS**

MM AMARI Antoine Serge G. Législation  
AMIN N'Cho Christophe Chimie analytique  
Mme BARRO KIKI Pulchérie Parasitologie - Mycologie  
MM BONY François Nicaise Chimie Analytique  
CLAON Jean Stéphane Santé Publique  
DEMBELE Bamory Immunologie  
DJOHAN Vincent Parasitologie -Mycologie  
EZOULIN Miezan Jean Marc Toxicologie  
GBASSI K. Gildas Chimie Minérale  
Mme KOUASSI AGBESSI Thérèse Bactériologie-Virologie  
MM MANDA Pierre Toxicologie  
OUASSA Timothée Bactériologie-Virologie  
Mme SACKOU KOUAKOU Julie Santé Publique  
SANGARE Mahawa Biologie Générale  
SANGARE TIGORI Béatrice Toxicologie  
M YAYO Sagou Eric Biochimie et Biologie moléculaire

### **5.ASSISTANTS**

MM ADJOUNGOUA Attoli Léopold Pharmacognosie  
ADJAMBRI Adia Eusebé Hématologie  
Mme AFFI-ABOLI Mihessé Roseline Immunologie

Mme	AKA-ANY-GRA Armelle Adjoua S.	Pharmacie Galénique
MM	AMICHIA Attoumou Magloire	Pharmacologie
	ANGORA Kpongbo Etienne	Parasitologie
Mme	AYE YAYO Mireille	Hématologie
MM	BROU Amani Germain	Chimie Analytique
	CABLAN Mian N'Ddey Asher	Bactériologie-Virologie
	DALLY Laba	Galénique
Mlle	DIAKITE Aïssata	Toxicologie
M	DJADJI Ayoman Thierry Lenoir	Pharmacologie
Mlle	DOTIA Tiepordan Agathe	Bactériologie-Virologie
M	EFFO Kouakou Etienne	Pharmacologie
Mlle	FOFIE N'Guessan Bra Yvette	Pharmacognosie
Mmes	HOUNSA Annita Emeline Epse Alla	Sante Publique
	IRIE N'GUESSAN Amenan	Pharmacologie
MM	KABRAN Tano Kouadio Mathieu	Immunologie
	KAMENAN Boua Alexis Thierry	Pharmacologie
	KACOU Alain	Chimie Thérapeutique
	KASSI Kondo Fulgence	Parasitologie-Mycologie
Mlle	KONATE Abibatou	Parasitologie-Mycologie
M	KONAN Konan Jean Louis	Biochimie et Biologie moléculaire
Mme	KONE Fatoumata	Biochimie et Biologie moléculaire
MM	KOUAKOU Sylvain Landry	Pharmacologie
	KOUAME Denis Rodrigue	Immunologie
	KPAIBE Sawa Andre Philippe	Chimie Analytique
	LATHRO Joseph Serge	Bactériologie-Virologie
Mme	LEKADOU KORE Sylvie	Santé Publique
M	N'GUESSAN Alain	Galénique
Mmes	N'GUESSAN-BLAO Amino Rebecca J.	Hématologie

OUAYOGODE-AKOUBET Aminata	Pharmacognosie
POLNEAU VALLEE Sandrine	Mathématiques biophysique
MM TRE Eric Serge	Chimie Analytique
Mmes VANGA ABO Henriette	Parasitologie-Mycologie
YAO ATTIA Akissi Régine	Santé publique
M. YAPO Assi Vincent De Paul	Biologie Générale

## 6. IN MEMORIUM

Feu KONE Moussa	Professeur Titulaire
Feu YAPO Abbé Etienne	Professeur Titulaire
Feu COMOIE Léopold	Maître de Conférences Agrégé
Feu GUEU Kaman	Maître Assistant
Feu ALLADOUM Nambelbaye	Assistant
Feu COULIBALY Sabali	Assistant
Feu TRAORE Moussa	Assistant
Feu YAPO Achou Pascal	Assistant

## IV. ENSEIGNANTS VACATAIRES

### 1. PROFESSEURS

MM ASSAMOI Assamoi Paul	Biophysique
DIACHINE Charles	Biophysique
OYETOLA Samuel	Chimie Minérale
ZOUZOU Michel	Cryptogamie

## 2. MAITRES DE CONFERENCES

Mme	TURQUIN née DIAN Louise	Biologie Végétale
M	YAO N'Dri	Pathologie Médicale
	KOUAKOU Tanoh Hilaire	Botanique et Cryptogamie

## 3. NON UNIVERSITAIRES

MM.	AHOUSSE Daniel Ferdinand	Secourisme
	DEMPAH Anoh Joseph	Zoologie.
	N'GOZAN Marc	Secourisme
	KONAN Kouacou	Diététique
	KONKON N'Dri Gilles	Botanique, Cryptogamie
Mme	PAYNE Marie	Santé Publique

**COMPOSITION DES DEPARTEMENTS DE  
L'UFR SCIENCES PHARMACEUTIQUES  
ET BIOLOGIQUES**

**I. BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE**

Professeur	LOUKOU Yao Guillaume	Maître de Conférences Agrégé Chef de département
Professeur	ZINZENDORF Nanga Yessé	Maître de Conférences Agrégé
Docteurs	KOUASSI AGBESSI Thérèse	Maître Assistante
	OUASSA Timothée	Maître Assistant
	CABLAN Mian N'Dédey Asher	Assistant
	DOTIA Tiepordan Agathe	Assistante
	LATHRO Joseph Serge	Assistant

**II. BIOCHIMIE, BIOLOGIE MOLECULAIRE, BIOLOGIE DE LA REPRODUCTION ET PATHOLOGIE MEDICALE**

Professeur	MONNET Dagui	Professeur Titulaire Chef de Département
Professeurs	HAUHOUOT ép. ATTOUNGBRE M.L.	Professeur Titulaire
	AHIBOH Hugues	Maître de Conférences Agrégée
	AKE EDJEME N'Guessan Angèle	Maître de Conférences Agrégée
	DIAFOUKA François	Maître de Conférences
Docteurs	YAYO Sagou Eric	Maître Assistant
	KONAN Konan Jean Louis	Assistant
	KONE Fatoumata	Assistante

### **III. BIOLOGIE GENERALE, HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE**

Professeur	SAWADOGO Duni	Maître de Conférences Agrégé Chef du Département
Professeurs	INWOLEY Kokou André	Maître de Conférences Agrégé
	KOUASSI Dinard	Maître de Conférences Agrégé
Docteurs	DEMBELE Bamory	Maitre-assistant
	SANGARE Mahawa	Maitre-assistant
	AFFI-ABOLI Mihessé Roseline	Assistante
	ADJAMBRI Adia Eusebé	Assistant
	AYE YAYO Mireille	Assistante
	KABRAN Tano K. Mathieu	Assistant
	KOUAME Denis Rodrigue	Assistant
	N'GUESSAN-BLAO A. Rebecca S.	Assistante
	YAPO Assi Vincent De Paul	Assistant

### **IV. CHIMIE ANALYTIQUE, CHIMIE MINERALE ET GENERALE, TECHNOLOGIE ALIMENTAIRE**

Professeur	ATINDEHOU Eugène	Professeur Titulaire Chef de Département
Professeurs	MALAN Kla Anglade	Professeur Titulaire
	AKE Michèle	Professeur Titulaire
	YOLOU Séri Fernand	Professeur Titulaire
Docteurs	AMIN N'cho Christophe	Maître Assistant
	BONY Nicaise François	Maître Assistant
	GBASSI K. Gildas	Maître Assistant
	BROU Amani Germain	Assistant
	KPAIBE Sawa Andre Philippe	Assistant

TRE Eric Serge

Assistant

## **V. CHIMIE ORGANIQUE ET CHIMIE THERAPEUTIQUE**

Professeur YAPI Ange Désiré Maître de Conférences Agrégé

Chef de Département

Professeur OUATTARA Mahama Maître de Conférences Agrégé

Docteur KACOU Alain Assistant

## **VI. PARASITOLOGIE, MYCOLOGIE, BIOLOGIE ANIMALE ET ZOOLOGIE**

Professeur MENAN Eby Ignace H. Professeur Titulaire

Chef de Département

Professeur YAVO William Maître de Conférences Agrégé

Docteurs BARRO KIKI Pulchérie Maître Assistante

DJOHAN Vincent Maître Assistant

ANGORA Kpongbo Etienne Assistant

KASSI Kondo Fulgence Assistant

KONATE Abibatou Assistante

VANGA ABO Henriette Assistante

## **VII. PHARMACIE GALENIQUE, BIOPHARMACIE, COSMETOLOGIE, GESTION ET LEGISLATION PHARMACEUTIQUE**

Professeur KOFFI Armand A. Maître de Conférences Agrégé

Chef de Département

Docteurs AMARI Antoine Serge G. Maître Assistant

AKA-ANY Grah Armelle A.S. Assistante

DALLY Laba Ismaël Assistant

N'GUESSAN Alain

Assistant

### **VIII. PHARMACOGNOSIE, BOTANIQUE, BIOLOGIE VEGETALE, CRYPTOGRAMIE,**

Professeur	KONE BAMBA Diénéba	Professeur Titulaire Chef de Département
Docteurs	ADJOUGOUA Attoli Léopold	Assistant
	FOFIE N'Guessan Bra Yvette	Assistante
	OUAYOGODE-AKOUBET Aminata	Assistante

### **IX. PHARMACOLOGIE, PHARMACIE CLINIQUE ET THERAPEUTIQUE, ET PHYSIOLOGIE HUMAINE**

Professeurs	KABLAN Brou Jérôme	Maître de Conférences Agrégé Chef de Département
	ABROGOUA Danho Pascal	Maître de Conférences Agrégé
	KOUAKOU SIRANSY N'doua G.	Maître de Conférences Agrégé
Docteurs	AMICHIA Attoumou M	Assistant
	DJADJI Ayoman Thierry Lenoir	Assistant
	EFFO Kouakou Etienne	Assistant
	IRIE N'GUESSAN Amenan G.	Assistante
	KAMENAN Boua Alexis	Assistant
	KOUAKOU Sylvain Landry	Assistant

### **X. PHYSIQUE, BIOPHYSIQUE, MATHEMATIQUES, STATISTIQUES ET INFORMATIQUE**

Professeur	ATINDEHOU Eugène	Professeur Titulaire Chef de Département par intérim
Docteur	POLNEAU VALLEE Sandrine	Assistante

## **XI. SANTE PUBLIQUE, HYDROLOGIE ET TOXICOLOGIE**

Professeur	KOUADIO Kouakou Luc	Professeur Titulaire Chef de département
Professeurs	DANO Djédjé Sébastien	Maître de Conférences Agrégé
	OGA Agbaya Stéphane	Maître de Conférences Agrégé
Docteurs	CLAON Jean Stéphane	Maître Assistant
	EZOULIN Miézan Jean Marc	Maître Assistant
	MANDA Pierre	Maître Assistant
	SANGARE TIGORI B.	Maître Assistante
	SACKOU KOUAKOU J.	Maître Assistante
	DIAKITE Aissata	Assistante
	HOUNSA-ALLA Annita Emeline	Assistante
	LEKADOU KORE Sylvie	Assistante
	YAO ATTIA Akissi Régine	Assistante

# DEDICACES

Au nom d'Allah, le tout Miséricordieux, le très miséricordieux,

1. Louange à Allah, le Maître de l'univers,
2. Le tout miséricordieux, le très miséricordieux,
3. Maître du jour de la rétribution,
4. C'est toi que nous adorons et dont nous implorons le secours
5. Guide – nous dans le droit chemin,
6. Le chemin de ceux que tu as comblé de bienfaits,
7. Non celui de ceux qui ont encouru ta colère ni des égarés.

Amine !

Quoran, Sourate : l'ouverture, Verset 1 à 7

***Je dédie cette thèse à.....***

*A*

*ALLAH*

Le créateur, l'omnipotent, l'omniscient et l'omniprésent.

C'est toi le maître de toute chose.

Je te loue de m'avoir permis de réaliser ce travail.

Accorde moi Seigneur ta miséricorde et conduit moi sur le droit chemin.

Répand tes bénédictions sur la meilleure de tes créatures MOUHAMMAD.

(Paix et Salut sur lui), sur sa famille, sur ses nobles compagnons et sur tous ceux qui ont suivi sa voie.

Amine !

*A mon père,*

*SOMBIE BIE ADAMA*

Ta simplicité dans notre éducation nous a permis de franchir les nombreux obstacles qui se sont dressés sur notre chemin. Merci pour tous les sacrifices consentis pour nous scolariser. Je prie Allah pour qu'il t'accorde longue vie et te gratifie d'une bonne santé.

Amine !

*A ma mère*

*DIARA AMI*

Maman saches que tu es plus qu'une mère pour moi.

Tu es mon amie, ma confidente, ma sœur.

Tu n'as jamais lésiné sur les moyens pour nous voir sur le

Chemin de la réussite. Tu nous as inculqué le sens  
de la fraternité, de l'humilité et du devoir.

Chaque fois que je pense à toi, le mot mère est rehaussé  
car tant de sacrifices consentis et d'amour ne peuvent faire  
de toi que la meilleure des mères possibles.

Je t'aime maman. Dieu t'accorde une longue vie pleine de santé.

Amine !

*A MES FRERES ET SOEURS  
ADJARATOU - DINETIONSE(KADI) -  
FATOUMATA(CHOU) - MOUSSA*

Soyez remerciés pour le soutien que vous m'accordez et  
recevez ce travail en témoignage de mon affection  
et de ma gratitude.

Que Dieu vous garde...

*A MES TANTES ET MES ONCLES*

Votre soutien tant moral que psychologique a été inestimable. Je vous prie de  
recevoir à travers ce travail toute ma reconnaissance.

Que DIEU vous bénisse.

*A MES COUSINES ET COUSINS*

Je reconnais l'impact positif des relations humaines sur le tissu familial. Merci  
pour votre soutien.

Que DIEU se souvienne toujours de vous.

*AUX NEVEUX ET NIECES*

Que ce travail vous serve de modèle pour  
vos ambitions futures.

Je vous souhaite de faire mieux par la grâce d'ALLAH...

### *A NEA MICHELINE*

Je rends grâce à Dieu de t'avoir connu. Tu m'as accepté et soutenu malgré mon caractère un peu difficile en me donnant toujours la force d'avancer. Que Dieu te garde et qu'il nous donne un beau bébé qui nous rendra heureux.

Merci pour tes prières.

### *A TOUS MES AMIS*

*Dr Ouattara sié, Dr Kacou Louis, Dr Traoré Adama, Dr Wassé, Dr Soro, Dr Tedjé, Dr Coulibaly Fatou, Dr Assamoï, Dr Ochou, Mahadou, BIM, Broulaye, Vakis, Solo, Yacou, Ami, Karim, Kadî...*

Vous qui m'avez aidé d'une manière ou d'une autre dans ma vie, je voudrais profiter de cette occasion pour vous remercier et demander au Tout- Puissant de vous combler de ses grâces.

### *A Dr KOMENAN .A .BERTHILDE ET A TOUS LE PERSONNEL DE LA PHARMACIE DU MARCHÉ DE GRD-BASSAM*

J'ai toujours trouvé auprès de vous, encouragements,  
Soutiens et conseil.

Puissiez vous trouver en ce travail l'expression de ma  
Profonde gratitude ...

## *A TOUS LES MEMBRES DE L'AEMP*

Merci pour cette seconde famille que vous m'avez donné. Profonde reconnaissance à DIEU pour la formation spirituelle et humaine que j'ai reçu au sein de l'amicale. Que DIEU vous bénisse.

## *AUX ETUDIANTS DE LA 29<sup>ième</sup> PROMOTION*

Je garde de très bons souvenirs de vous. Merci pour votre soutien. Je remercie particulièrement le président de la promotion ainsi que son bureau.

Que DIEU ait sa main sur la carrière de chacun de nous.

# REMERCIEMENTS

*A NOTRE CHÈRE MAÎTRE ET DIRECTEUR DE  
THÈSE*

**Monsieur le Professeur INWOLEY Kokou André**

Vous m'avez fait l'honneur de me confier ce travail au cours duquel vous êtes toujours resté disponible.

Auprès de vous nous avons appris beaucoup tant sur le plan intellectuel que sur le plan moral. Les mots me manquent pour vous dire toute ma reconnaissance pour cette aide inestimable.

Que notre SEIGNEUR qui voit dans le secret vous garde longtemps et vous comble au-delà de vos attentes. **MERCI Professeur.**

*A TOUS NOS MAÎTRES DE LA FACULTÉ DE  
PHARMACIE.*

Merci pour la formation reçue durant ces sept années.

**A Dr KABRAN Tanoh Kouadio Mathieu**, assistant d'immunologie au CeDReS.

A Tout le personnel du CeDReS en particulier à : **Mr DOGBO, Mr KONAN, MARCELLINE.**

Au personnel du Centre de Prise en charge de Recherche et de Formation sur le VIH (CePReF).

**Merci pour votre disponibilité et votre participation à la réalisation de ce travail. Que DIEU vous bénisse.**

# **A NOS MAITRES ET JUGES**

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

### **Monsieur le Professeur KOUADIO KOUAKOU LUC**

- Professeur titulaire d'hydrologie et de santé publique à l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques,
- Chef du laboratoire d'analyses médicales et du service de contrôle des eaux de l'Institut National d'Hygiène Publique,
- Responsable du D.E.U d'Homéopathie à l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques,
- Ancien Vice-doyen chargé de la pédagogie à l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques,
- Responsable de la maîtrise de la santé publique à l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques.

*Cher Maître,*

*Vous avez accepté avec spontanéité de présider ce jury malgré vos nombreuses occupations. L'honneur est immense pour nous, de vous voir présider ce jury de thèse.*

*Vous faite partie de ceux à qui nous voulions nous identifier tout au long de notre cursus.*

*Permettez-nous de vous témoigner notre profonde gratitude et l'expression de nos sentiments les plus respectueux.*

***Que Dieu vous bénisse.***

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

### **Monsieur le Professeur INWOLEY KOKOU ANDRE**

- Professeur Agrégé d'Immunologie au Département de Biologie Générale, Hématologie et Immunologie de l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques (Université Félix Houphouët-Boigny);
- Vice-Doyen chargé de la pédagogie à l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques ;
- Responsable de l'Unité d'Immunologie au Centre de Diagnostic et de Recherche sur le VIH SIDA et les infections opportunistes (CeDReS) au CHU de Treichville ;
- Docteur de l'Université Paris VII, option Immunologie ;
- Pharmacien, Biologiste des Hôpitaux ;
- Ancien Interne des Hôpitaux d'Abidjan

*Cher Maître,*

*Vous nous avez marqué par votre amour du travail bien fait. Grâce à votre disponibilité et vos compétences tout au long de ce travail, vous avez su nous guider vers son aboutissement. Vous êtes pour nous un exemple et nous voulons vous remercier d'avoir accepté de diriger cette thèse.*

*Soyez assuré de notre haute considération et de notre profonde gratitude.*

***Que Dieu vous bénisse.***

## A NOTRE MAITRE ET JUGE

### Monsieur le professeur NANGA YESSE ZINZENDORF

- Professeur Agrégé de Microbiologie au Département de Bactériologie et Virologie de l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques d'Abidjan (Université Félix Houphouët-Boigny);
- Docteur en Pharmacie (Université Félix Houphouët-Boigny) ;
- Diplômé de l'institut Pasteur de Paris ;
- Docteur des Universités de Reims ;
- Pharmacien Biologiste au LNSP et au HMA ;
- Colonel des Armées ;
- Pharmacien-Chef de la Gendarmerie Nationale ;

*Cher Maître,*

*Malgré vos nombreuses obligations, vous nous avez fait le grand honneur d'accepter sans aucune hésitation de participer au jury de cette thèse. Ce travail je l'espère aura répondu à vos exigences de scientifique averti.*

*Soyez assuré de notre haute considération et de notre profonde gratitude.*

***Que Dieu vous bénisse.***

## **A NOTRE MAITRE ET JUGE**

### **Monsieur le Professeur AHIBOH HUGUES**

- Professeur Agrégé de Biochimie au Département de Biochimie, Biologie moléculaire, Biologie de la reproduction et Pathologie médicale de l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques d'Abidjan (Université Félix Houphouët-Boigny) ;
- Ancien Interne des Hôpitaux d'Abidjan
- Docteur en Pharmacie (Université Félix Houphouët-Boigny)
- Responsable de l'unité de Biochimie du Centre de Diagnostic et de Recherche sur le SIDA et les maladies opportunistes (CeDRes).

*Cher maître,*

*Toujours ouvert, disponible, accueillant et bon conseiller, votre rigueur scientifique, nous impose une grande admiration et un profond respect.*

*Accepter nos sincères remerciements et notre infinie reconnaissance.*

***Que Dieu vous bénisse.***

## SOMMAIRE

LISTE DES ABREVIATIONS.....	xxviii
LISTE DE FIGURES .....	xxx
LISTE DE TABLEAUX.....	xxxii
INTRODUCTION.....	1
<b>PREMIERE PARTIE : REVUE DE LA LITTERATURE SUR L'INFECTION A VIH/Sida .....</b>	<b>4</b>
I- HISTORIQUE.....	5
II- EPIDEMIOLOGIE.....	6
III- AGENT PATHOGENE.....	9
IV- PHYSIOPATHOLOGIE.....	14
V- DIAGNOSTIC.....	18
VI-TRAITEMENT.....	29
<b>DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE.....</b>	<b>34</b>
I-MATERIEL ET METHODES.....	35
II- RESULTATS .....	68
III- DISCUSSION.....	74
CONCLUSION.....	77
RECOMMANDATIONS.....	79
REFERENCES .....	81
ANNEXES.....	89

## LISTE DES ABREVIATIONS

<b>ADN</b>	: Acide Désoxyribo Nucléique
<b>ARN</b>	: Acide Ribonucléique
<b>CDC</b>	: Center for Disease Control and prevention
<b>CeDReS</b>	: Centre de Dépistage et de Recherche sur le Sida et les maladies opportunistes.
<b>CePReF</b>	: Centre de Prise en charge de Recherche et de Formation
<b>CHU</b>	: Centre Hospitalier et Universitaire
<b>CNTS</b>	: Centre National de Transfusion Sanguine
<b>DO</b>	: Densité optique
<b>ELISA</b>	: Enzyme linked immunosorbent assay
<b>Gp</b>	: Glycoprotéine
<b>HRP</b>	: Horse Raifort Peroxydase
<b>Ig</b>	: Immunoglobuline
<b>IPCI</b>	: Institut Pasteur de Côte d'Ivoire
<b>K</b>	: Coefficient Kappa
<b>LTCD4+</b>	: Lymphocytes T CD4+
<b>OMS</b>	: Organisation Mondiale de la Santé
<b>ONUSIDA</b>	: Programme commun des nations unies sur le VIH /sida
<b>PNPEC</b>	: Programme National de Prise En Charge des personnes vivant avec le VIH
<b>PVVIH</b>	: Personnes vivant avec le VIH
<b>RT</b>	: Reverse transcriptase
<b>Se</b>	: Sensibilité
<b>Sp</b>	: Spécificité

<b>TC</b>	: Taux de concordance
<b>TRD</b>	: Test Rapide Discriminant
<b>VIH</b>	: Virus de l'immunodéficience Humaine
<b>WB</b>	: Western blot

## LISTE DES FIGURES

<b>FIGURE 1</b>	: Structure du VIH1.....	10
<b>FIGURE 2</b>	: Cycle de réplication du VIH1.....	15
<b>FIGURE 3</b>	: Phases évolutives de l'infection à VIH-1.....	17
<b>FIGURE 4</b>	: Cinétique des marqueurs sériques au cours de l'infection à VIH1.....	26
<b>FIGURE 5</b>	: Algorithme de dépistage évalué .....	38
<b>FIGURE 6</b>	: Algorithme de référence pour l'évaluation des tests rapides.....	39
<b>FIGURE 7</b>	: Test de dépistage rapide Determine HIV1-HIV1/2 <sup>®</sup> .....	41
<b>FIGURE 8</b>	: Interprétation des résultats du test Determine HIV1-HIV1/2 <sup>®</sup> .....	43
<b>FIGURE 9</b>	: Test de dépistage rapide Stat-Pak HIV1/2 <sup>®</sup> .....	44
<b>FIGURE 10</b>	: Interprétation des résultats du test STAT-PAK HIV1/2 <sup>®</sup> .....	46
<b>FIGURE 11</b>	: Test de dépistage rapide Genie III <sup>®</sup> HIV-1/HIV-2 .....	47
<b>FIGURE 12</b>	: Interprétation des résultats du test GENIE III <sup>®</sup> HIV-1/HIV2.....	49
<b>FIGURE 13</b>	: Principe de la réaction de type ELISA indirect.....	54
<b>FIGURE 14</b>	: Plan de distribution de plaque pour ELISA peptidique	56
<b>FIGURE 15</b>	: Bandelette du test INNOLIA <sup>™</sup> HIV I/II Score.....	59

## LISTE DES TABLEAUX

<b>TABLEAU I</b>	:Recommandations de l'OMS pour le choix de stratégies de dépistage de l'infection à VIH .....	28
<b>TABLEAU II</b>	:Schéma thérapeutique utilisé chez l'adulte et chez l'adolescent en Côte d'Ivoire.....	32
<b>TABLEAU III</b>	: Cotation de la bande de réaction antigène anticorps du test INNOLIA <sup>™</sup> .....	61
<b>TABLEAU IV</b>	: Calcul des performances de dépistage .....	64
<b>TABLEAU V</b>	: Calcul du coefficient kappa .....	65
<b>TABLEAU VI</b>	: Valeurs de kappa et degré d'accord attendu.....	66
<b>TABLEAU VII</b>	:Origine des échantillons utilisés pour l'évaluation.....	68
<b>TABLEAU VIII</b>	: Performances de dépistage de l'algorithme évalué.....	69
<b>TABLEAU IX</b>	: Performances de sérotypage de l'algorithme évalué.....	70
<b>TABLEAU X</b>	:Performances de sérotypage de l'algorithme en vigueur.....	71
<b>TABLEAU XI</b>	: Comparaison des performances de sérotypage de l'algorithme évalué et de l'algorithme en vigueur.....	72
<b>TABLEAU XII</b>	: Variabilité de lecture du Genie III <sup>®</sup> entre 15 et 30 mn...	73

# INTRODUCTION

Le Programme Commun des Nations Unies sur le sida (ONUSIDA) estimait à la fin de l'année 2011, à environ 34 millions le nombre de personnes vivant avec le VIH (PVVIH) dans le monde **(41)**.

Au sein du bloc épidémiologique de l'Afrique de l'Ouest, la Côte d'Ivoire est l'un des pays les plus affectés avec 360 000 PVVIH en 2011 **(41)**, et une prévalence de 3,7% chez les adultes de 15 à 49 ans **(24)**.

En l'absence de prévention vaccinale, les efforts de la lutte contre la pandémie du VIH/sida se focalisent, sur la prévention et sur une meilleure prise en charge des personnes infectées.

Le diagnostic biologique de l'infection à VIH revêt une importance capitale pour la lutte contre l'épidémie, car il est le point d'entrée principal des stratégies de prévention et de prise en charge biologique et thérapeutique. Ce diagnostic biologique, notamment le dépistage sérologique du VIH permet de garantir la sécurité des dons de sang, de suivre l'évolution de l'épidémie et de déterminer le statut infectieux de la population. Il est donc nécessaire de disposer de tests de dépistage de qualité.

Les algorithmes de dépistage du VIH constituent un aspect critique du conseil et du dépistage volontaire. En Côte d'Ivoire, l'algorithme séquentiel en vigueur jusqu'en Mai 2009 utilisait les tests Determine<sup>®</sup> [Alere] et Genie II<sup>®</sup> [Biorad].

Devant l'arrêt de fabrication du test rapide discriminant (TRD) Genie II<sup>®</sup>, le Ministère en charge de la Santé a pris une note circulaire en Mai 2009 pour remplacer le Genie II<sup>®</sup> par le test SD Bioline HIV 1/2 3.0<sup>®</sup> [Standard Diagnostic] **(20)**.

Lors de l'évaluation en phase III, de cet algorithme, conduite par le Programme National de Prise en charge des PVVIH (PNPEC), un fort taux de résultat VIH-1+2 a été observé par rapport aux tests de référence **(21)**.

C'est dans ce contexte que quatre TRD (Genie III HIV-1/HIV-2<sup>®</sup>, Immunocomb II HIV 1&2 BISPOT<sup>®</sup> de ALERE, SD Bioline HIV 1/2 3.0<sup>®</sup>, Immunoflow HIV1-HIV2<sup>®</sup> de CORE DIAGNOSTICS), ont été évalués en phase I dans le but de comparer leurs caractéristiques opérationnelles et leurs performances techniques **(23)**. Au terme de cette évaluation, le Genie III HIV-1/HIV-2<sup>®</sup> a obtenu les meilleures performances **(23)**, et l'algorithme suivant a été proposé pour le dépistage de l'infection à VIH en Côte d'Ivoire : (i) Determine<sup>®</sup> + Stat Pak<sup>®</sup> au poste de dépistage ; (ii) Determine<sup>®</sup> + Genie III HIV-1/HIV-2<sup>®</sup> +/- Stat Pak<sup>®</sup> au laboratoire lors du bilan initial.

Selon les recommandations de l'OMS, un algorithme de dépistage doit être évalué en phase II (Evaluation sur le terrain) avant son adoption **(16)**.

Ainsi l'objectif général de notre étude était de réaliser une évaluation en phase II de l'algorithme sur-cité pour le dépistage du VIH en Côte d'Ivoire.

Les objectifs spécifiques étaient de :

- Evaluer les performances de dépistage de l'algorithme ;
- Déterminer le pouvoir discriminant de cet algorithme ;
- Déterminer les caractéristiques opérationnelles de l'algorithme.

**PREMIERE PARTIE :**  
**REVUE DE LA LITTERATURE  
SUR L'INFECTION A VIH**

## I-HISTORIQUE

C'est en juin 1981 que le Center for Disease Control and prévention (CDC), d'Atlanta a décrit des pneumocystoses pulmonaires liées à une immunodéficience inexplicée chez de jeunes homosexuels hospitalisés à Los Angeles **(14)**.

Cette immunodéficience inexplicée fut appelée syndrome d'immunodéficience acquise (sida), en décembre de la même année.

En mai 1983, l'équipe du professeur Jean-Claude Chermann qui travaille à l'institut Pasteur sous la direction du Pr Luc MONTAGNIER décrit pour la première fois le virus responsable de la maladie nommé Lympho adenopathy Associated Virus (LAV) **(31)**.

En septembre de la même année, le Pr Luc Montagnier présente au gouvernement français une demande de brevet d'un test ELISA capable de révéler la présence des anticorps anti –LAV **(5)**.

En 1985, BARIN et ses collaborateurs montrèrent qu'un autre rétrovirus humain apparenté au VIH1 mais plus proche du rétrovirus simien circule en Afrique de l'ouest. Ce second virus du sida est actuellement appelé VIH-2 **(4)**.

En 1986, le virus LAV=HTL3 entre dans la nomenclature internationale sous le nom de VIH (virus de l'Immunodéficience Acquise Humaine).

## II- EPIDEMIOLOGIE

### II.1- REPARTITION GEOGRAPHIQUE

#### II.1.1- DANS LE MONDE

L'infection par le VIH constitue depuis son apparition une pandémie qui continue sa progression avec d'importantes disparités géographiques.

Selon les estimations de l'ONUSIDA, 34 millions de personnes vivaient avec le VIH dans le monde à la fin de l'année 2011, dont 3,4 millions étaient des enfants d'âge inférieur à 15 ans. Les femmes représentaient 49% des adultes séropositifs. Le nombre de nouvelles infections s'élevait à environ 2,5 millions de personnes dont 330 000 enfants. Environ 1,7 millions de décès ont été enregistrés dont 230 000 enfants **(41)**.

#### II.1.2-EN AFRIQUE

Selon l'ONUSIDA, l'Afrique sub-saharienne demeure, de loin, la région du monde la plus touchée par la pandémie du VIH/sida. Dans son rapport publié en 2011, l'ONUSIDA estimait à environ 23,5 millions le nombre de PVVIH en Afrique sub-saharienne. Le nombre de nouvelles infections et de décès était respectivement de 1,8 millions de personnes (dont 270 000 enfants) et de 1,2 millions de personnes en 2011 **(41)**.

#### II.1.3-EN CÔTE D'IVOIRE

Les premiers cas ont été observés au Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Treichville en 1985 **(22)**. Aujourd'hui, la Côte d'Ivoire est l'un des pays d'Afrique de l'ouest les plus touchés par la pandémie **(19)**.

Le Ministère de la Santé et de la Lutte contre le sida en collaboration avec l'Institut National de la Statistique estimait dans son rapport de l'Enquête

Démographique et de Santé en Côte d'Ivoire (EDSCI-III) publié en Janvier 2013 à 3,7 %, la prévalence global de l'infection à VIH en Côte d'Ivoire.

La prévalence chez les femmes (4,6 %) demeure toujours plus élevée que chez les hommes (2,7 %) **(24)**.

Selon l'ONUSIDA, 360 000 personnes vivaient avec le VIH/sida en Côte d'Ivoire en 2011, et 23 000 décès ont été observés **(41)**.

## **II.2- MODE DE TRANSMISSION DU VIRUS**

L'être humain représente le seul réservoir et l'hôte définitif connu pour le VIH. Ce virus a été isolé de la plupart des liquides biologiques humains tels que le sang, l'urine, le liquide céphalorachidien, le sperme, les sécrétions vaginales, le lait maternel, les larmes et la salive. Toutefois, la transmission du VIH nécessite une porte d'entrée. Il existe trois modes de transmission du VIH qui sont : la voie sexuelle, la voie sanguine et la voie materno-foetale.

### **II.2.1-TRANSMISSION SEXUELLE**

La voie sexuelle constitue le principal mode d'acquisition de l'infection à VIH/sida. Elle se fait par l'intermédiaire des muqueuses (Buccale, vaginale ou rectale) lorsqu'elles sont en contact avec les sécrétions sexuelles ou du sang contenant le virus **(3)**.

La transmission a lieu surtout lors des rapports sexuels non protégés, qu'ils soient homosexuels ou hétérosexuels. Le risque est d'autant plus grand que le nombre de partenaires sexuels est élevé et que sont associées des infections sexuellement transmissibles (IST) **(12)**.

Le risque de transmission du VIH lors des rapports sexuels dépend de plusieurs facteurs tels que :

- la présence de l'infection chez le partenaire ;

- la nature du contact sexuel ;
- le degré d'infectivité de la personne infectée (la charge virale) ;
- la présence chez l'un ou l'autre partenaire d'autres IST ou de lésions génitales qui accroissent le risque de transmission.

## II.2.2-TRANSMISSION SANGUINE

Elle concerne principalement :

- la transfusion de sang ou de produits sanguins ;
- la transmission par des objets tranchants souillés ;
- l'usage de drogues par voie intraveineuse ;
- l'accident d'exposition au sang.

## II.2.3-TRANSMISSION MATERNO-FŒTALE

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

- In-utero, dans les semaines précédant l'accouchement dans un tiers des cas (30%) ;
- Au moment de l'accouchement dans deux tiers des cas (60%) ;
- La période de l'allaitement présente également un risque d'infection pour l'enfant estimé entre 22 et 25% (**18**).

### **III-AGENT PATHOGÈNE**

#### **III.1-TAXONOMIE**

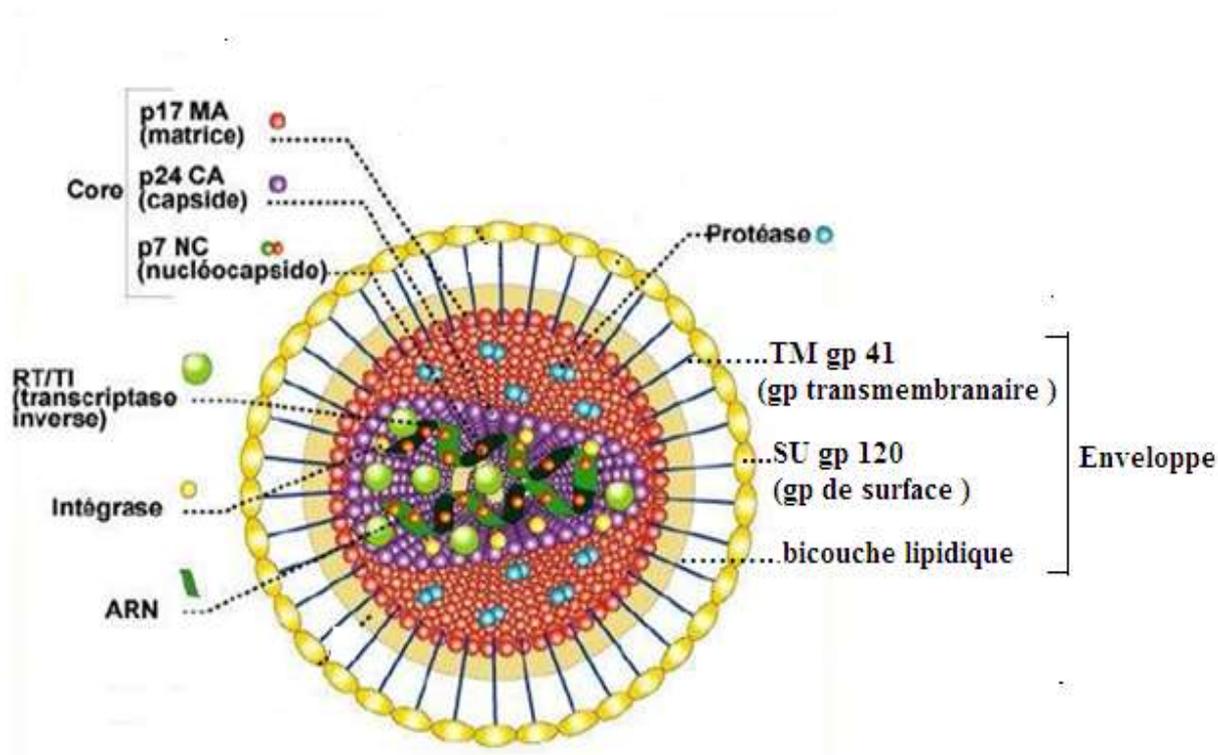
Le VIH est un lentivirus appartenant à la famille des Retroviridae. Les rétrovirus sont des virus à Acide ribonucléique (ARN) enveloppés, caractérisés par la présence d'une enzyme particulière appelée transcriptase inverse ou reverse transcriptase (RT).

#### **III.2-STRUCTURE DU VIRUS VIH 1**

Le VIH se présente morphologiquement au microscope électronique sous forme sphérique, avec un diamètre compris entre 90 et 120 nm **(6)**.

Il comporte de l'extérieur vers l'intérieur **(figure 1)** :

- une enveloppe ;
- un core ;
- un génome viral.



**Figure 1** : Structure du VIH1 (17).

### III.2.1-ENVELOPPE VIRALE

L'enveloppe virale est constituée d'une double couche lipidique issue des cellules infectées. Elle entoure la matrice et est tapissée de deux sortes de glycoprotéines (gp) virales :

- une glycoprotéine externe ou de surface, dénommée gp 120 ;
- une glycoprotéine interne ou transmembranaire, dénommée gp 41 (6).

Cette glycoprotéine transmembranaire serait responsable de la fusion du virus avec la cellule hôte.

Ces deux types de glycoprotéine (transmembranaire et de surface) dérivent d'un même précurseur, la glycoprotéine gp 160 pour le VIH-1.

### III.2.2- LE CORE VIRAL

Le core viral inclut : la matrice et la capside.

La matrice ou p17 est située juste en dessous de l'enveloppe ; elle est constituée de protéines structurales et de la protéase. Elle jouerait un rôle dans la stabilité de la particule virale.

La nucléocapside suit la matrice et est constituée de protéines, de matériel génétique et d'enzymes. La capside virale qui se présente sous forme de trapèze, se situe au centre de la particule virale. Elle est constituée d'une protéine interne majeure (p24) et d'une protéine interne associée à l'ARN (p7). Par ailleurs, la capside renferme deux enzymes virales : la transcriptase inverse (ADN-polymérase ARN-dépendante) qui permet de synthétiser, à partir de l'ARN viral, un ADN bicaténaire (provirus) et l'intégrase qui permet d'intégrer le provirus dans l'ADN de la cellule.

### III.2.3-LE GENOME VIRAL

Le génome viral comprend deux sous-unités identiques d'ARN. Ce génome est constitué de trois gènes caractéristiques des rétrovirus : *gag*, *pol* et *env* qui codent pour la synthèse des protéines structurales et de différentes enzymes du virus (53).

- Le gène *gag* (group specific antigen) code pour les protéines structurales (36).
- Le gène *pol* (polymérase) code pour les différentes enzymes virales : la protéase, la Reverse Transcriptase et l'intégrase (36).
- Le gène *env* (enveloppe) code pour les glycoprotéines d'enveloppe de surface gp120 et transmembranaire gp41.

Le VIH, contient également au moins six gènes accessoires spécifiques codant pour les protéines de régulation : le gène *tat*, le gène *rev*, le gène *vif*, le gène *vpr*, Le gène *vpu*, le gène *nef* **(51)**.

**Remarque :**

- Les glycoprotéines externe et interne du VIH2 sont dénommées respectivement gp 105 et gp 36.
- Le VIH2 possède la même organisation génomique que le VIH1, cependant il ne possède pas le gène *vpu* mais plutôt le gène *vpx* **(53)**.

### **III.3-PROPRIETES PHYSICOCHEMIQUES**

A l'extérieur de l'organisme le virus est fragile et est détruit par :

- ✓ chauffage du matériel contaminé à 121°C pendant au moins 20 minutes dans un autoclave et par ébullition continue pendant au moins 30 minutes ;
- ✓ une solution d'hypochlorite de sodium à 0,38% (1,2°ch) ;
- ✓ l'éthanol à 70° pendant 15 minutes.

### **III.4-VARIABILITE GENETIQUE**

Le VIH est un virus qui a une très importante variabilité génétique. Il présente ainsi une très grande diversité.

Il existe deux sérotypes du VIH : le VIH1 répandu sur l'ensemble des continents et responsable de la pandémie mondiale et le VIH2 présent principalement en Afrique de l'ouest **(46)**.

En Côte d'Ivoire, le sérotype prédominant est le VIH1 **(39, 45)**.

Sur la base de l'analyse des séquences des gènes *env* et *gag* du VIH1, ces sérotypes se subdivisent en des groupes et sous-types **(37)**.

Ainsi, le VIH-1 peut être classé en groupe M, groupe N, groupe O et groupe P :

- groupe M (Major) : les souches de ce groupe sont cosmopolites et représentent environ 95% des souches circulantes. Le groupe M se subdivise en neuf sous-types (A, B, C, D, F, G, H, J, K) **(11)** ;
- groupe O (Outlier) ;
- groupe N (New) **(52)** ;
- groupe P **(43)** ;

Les souches des groupes N, O et P sont essentiellement retrouvées en Afrique centrale.

Aux sous-types distincts, il faut rajouter des formes recombinantes circulantes (CRF) issues de la recombinaison des sous-types.

La variabilité génétique du VIH a des répercussions à plusieurs niveaux : géographique, physiopathologique, diagnostic, thérapeutique, mise au point d'un vaccin.

**Au niveau géographique**, le sous-type B du VIH1 prédomine en Europe et aux Etats-Unis, le sous-type E (CRF01-AE) en Asie et le sous-type C en Afrique australe. Tous les variants du VIH peuvent être retrouvés en Afrique de l'ouest avec une prédominance du CRF02-AG **(48)**.

**Au niveau physiopathologique**, des études ont établi le faible pouvoir pathogène du VIH2 par rapport au VIH1, et il n'existe pas de différence de virulence entre les différents sous-types du VIH1 **(32)**.

**Au niveau diagnostic**, la diversité génétique du VIH1 influence l'efficacité de certains tests de dépistage. En effet les virus VIH1 du groupe O n'étaient pas détectés par certains tests sérologiques commerciaux et donnaient des résultats indéterminés avec les tests de confirmation, tel que le Western Blot **(35, 38)**.

**Au niveau thérapeutique**, le VIH2 et certains isolats du VIH1 du groupe O ont une résistance naturelle aux inhibiteurs non nucléosidiques de la reverse transcriptase.

**Au niveau du vaccin**, la variabilité génétique du VIH est un obstacle pour la mise au point d'un vaccin contre le VIH (8).

## **IV- PHYSIOPATHOLOGIE**

### **IV.1- CELLULES CIBLES**

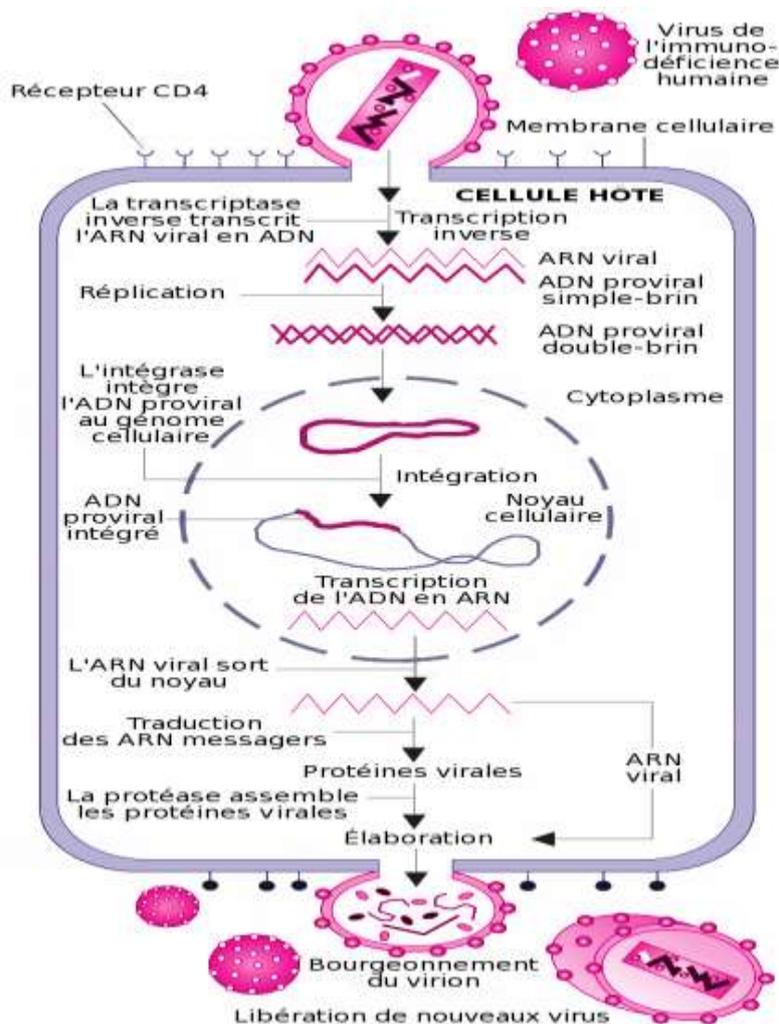
Les cellules cibles du VIH sont les cellules qui possèdent la molécule CD4 à leur surface. Les CD4 sont exprimées en forte quantité à la surface des lymphocytes T auxiliaires et à un degré moindre sur les cellules présentatrices d'antigènes : monocytes, macrophages et cellules dendritiques. La molécule CD4 fonctionne comme un récepteur de haute affinité pour la gp120 du VIH. Des récepteurs accessoires tels que CCR5 et CXCR4 sont nécessaires à la pénétration du virus dans la cellule hôte (27).

### **IV.2-CYCLE DE REPLICATION DU VIH-1**

Le VIH se fixe par l'intermédiaire de la gp120 sur les récepteurs CD4 des cellules cibles. L'enveloppe du VIH va d'abord fusionner avec la membrane de la cellule hôte puis, le virus déversera ses enzymes et son matériel génétique dans le cytoplasme de la cellule. La reverse transcriptase (RT) réalise ensuite la retrotranscription de l'ARN viral (brin unique) en ADN (Acide désoxyribonucléique) proviral (double brin). L'intégrase virale incorpore l'ADN proviral obtenu dans l'ADN de la cellule infectée. Il s'en suit alors la transcription de l'ADN viral en ARN messager (ARNm) viral qui sera traduit en protéines virales. La protéase virale découpe enfin les protéines virales synthétisées qui, assemblées à des molécules d'ARN viral, bourgeonnent à la

surface de la cellule infectée pour former de nouveaux virions qui se détachent, puis infectent d'autres cellules (7).

Ce cycle de réplication est représenté par la **figure 2**.



**Figure 2:** Cycle de réplication du VIH1 (54).

### IV.3-INTERACTION VIRUS-HOTE

Le déficit immunitaire est induit par la réplication virale qui est responsable d'anomalies quantitatives et qualitatives au niveau des lymphocytes TCD4<sup>+</sup> (LTCD4<sup>+</sup>). Il s'en suit un dysfonctionnement du système immunitaire.

Les anomalies quantitatives sont liées à un effet cytopathique du VIH sur les cellules cibles. Cet effet cytopathique se traduit par une destruction des cellules cibles lors de la libération des virions produits au cours de la réplication virale du VIH.

Les anomalies qualitatives sont provoquées par les protéines accessoires du virus (*Vpu*, *Nef*, *Vpr*, *Tat*, *Vif*) qui altèrent le fonctionnement des LTCD4+.

#### IV.4-HISTOIRE NATURELLE

L'évolution spontanée de l'infection à VIH peut être divisée en quatre phases :

**Première phase** (Phase de Primo-infection) : elle est asymptomatique chez 50% des sujets infectés. Les premiers signes apparaissent en moyenne 20 jours après la contamination. Elle se manifeste par un syndrome pseudogrippal ou mononucléosique. La primo infection dure de 1 à 3 semaines et passe souvent inaperçue. C'est au cours de cette phase que le système immunitaire réagit aboutissant à la production d'anticorps dirigés contre l'ensemble des protéines du VIH. Il s'agit de la séroconversion. Cette primo infection est caractérisée par une chute rapide, mais transitoire, du taux des LTCD4+, avec des taux demeurant habituellement à la limite inférieure de la normale et une forte augmentation concomitante de la charge virale.

Le retour complet ou partiel à la normale a probablement une valeur pronostique. En effet, une lymphopénie absolue entre 200 et 500 LTCD4+/mm<sup>3</sup> peut persister et aboutir au développement rapide du sida, définissant ainsi la catégorie des patients progressseurs à court terme.

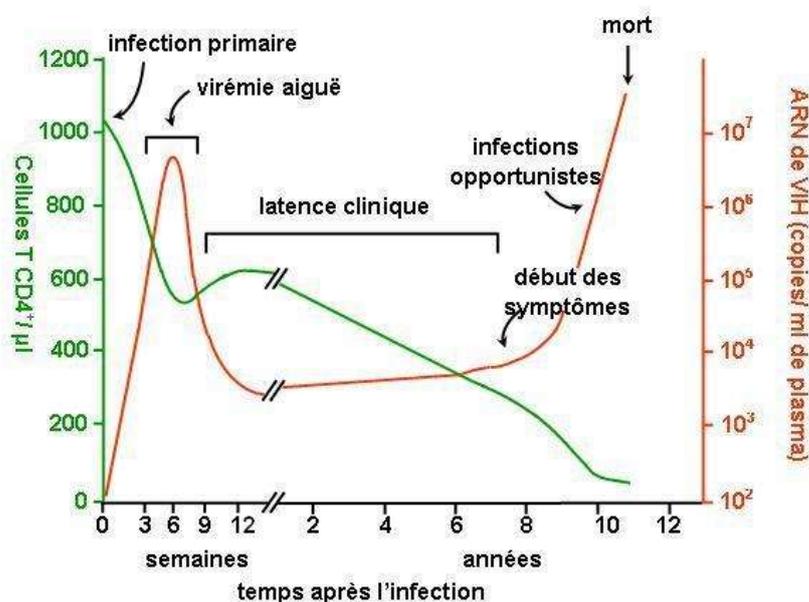
**Deuxième phase** (Phase Asymptomatique) : D'une durée pouvant aller de quelques mois à plus de 10 ans.

Elle se caractérise par une absence de signes cliniques. Elle est marquée par une diminution progressive du taux de lymphocytes qui passe en dessous des limites normales. L'absence de déplétion et de progression clinique à long terme (plus de 8 ans) définit la catégorie des sujets non progresseurs à long terme.

**Troisième phase** (Phase d'accélération) : D'une durée de 6 à 18 mois, elle est caractérisée par un brusque infléchissement de la pente de déplétion des cellules LTCD4+.

**Quatrième phase** (Phase de sida) : c'est la phase terminale de la maladie. Elle est la conséquence d'une longue déplétion de lymphocytes. Le sida apparaît lorsque le nombre de LTCD4+ devient très faible. Il apparaît alors des affections opportunistes.

Les différentes phases de l'évolution du VIH-1 sont représentées par la **figure 3**.



**Figure 3** : Phases évolutives de l'infection à VIH1 (28).

## V- DIAGNOSTIC

### V.1-DIAGNOSTIC CLINIQUE

Il existe deux principales classifications de l'infection à VIH chez l'adulte et l'adolescent :

- La classification CDC de 1993(**annexe1**), qui classe les patients en 3 catégories (**15**)
- la classification OMS 2006 (**annexe2**), qui classe les patients en 4 stades cliniques de gravité croissante (**42**).

### V.2-DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE

Le diagnostic biologique de l'infection à VIH peut se faire aussi bien par une méthode directe qu'indirecte.

#### V.2.1- LE DIAGNOSTIC DIRECT

Le diagnostic direct repose sur la détection du virus lui-même ou de certains de ses composants antigéniques.

##### V.2.1.1-La détection de l'Antigène p24

La détection de l'antigène p24 a pour intérêt le diagnostic de l'infection avant l'apparition des anticorps anti-VIH. Elle permet de réduire la fenêtre sérologique et surtout de faire un diagnostic précoce de l'infection (**34**).

Elle est utilisée pour le diagnostic dans la période de primo -infection. Sa détection peut être réalisée par un test ELISA de 4<sup>ème</sup> génération.

##### V.2.1.2- L'Isolement viral

L'isolement du VIH en culture cellulaire est une méthode longue, coûteuse, nécessitant des laboratoires d'un haut niveau de sécurité. L'isolement viral se

fait à partir des cellules mononucléés sanguines du sujet infecté qui sont mises en culture avec celles de donneurs sains qui servent de support pour la réplication virale. Celle-ci est détectée par l'apparition de l'antigène P24 et/ou d'une activité enzymatique (exemple : la transcriptase inverse) dans le milieu de culture.

### **V.2.1.3- La biologie moléculaire**

C'est une technique qui met en évidence le matériel génétique du VIH, aussi bien l'ARN des virus circulants que l'ADN proviral intégré dans la cellule hôte. Les techniques de biologie moléculaire passent par une amplification du matériel génétique (PCR) avec une détection des amplicons par des sondes marquées. Ainsi, les principales techniques utilisées sont la technique RT-PCR, la technique ADN branchée, la technique NASBA **(49)**.

Les méthodes de biologie moléculaire sont utilisées en pratique courante pour le dépistage pédiatrique précoce de l'infection à VIH qui peut être réalisé dès la quatrième semaine de vie. La biologie moléculaire est aussi utilisée pour la mesure de la charge virale chez les PVVIH afin d'initier ou de suivre un traitement antirétroviral **(49)**.

Enfin, la biologie moléculaire est une des étapes de la détermination des sous-types ou génotypes de VIH et pour l'étude des résistances aux antirétroviraux.

### **V.2.2- LE DIAGNOSTIC INDIRECT**

Le diagnostic indirect permet de mettre en évidence les anticorps produits par un sujet qui est entré en contact avec le VIH. Ce diagnostic indirect utilise des tests de dépistage qui peuvent être réalisés par plusieurs méthodes et combinés dans plusieurs stratégies.

### V.2.2.1-Les tests Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Les tests ELISA utilisent des réactions immuno-enzymatiques en phase solide. La réaction antigène-anticorps est révélée par une coloration obtenue par l'action d'une enzyme sur son substrat. Ces tests sont utilisés en raison de leur capacité à analyser un nombre élevé d'échantillons, en particulier dans les centres de contrôle du sang.

Les tests ELISA peuvent être classés en fonction de plusieurs critères : l'antigène, le mode de révélation de l'anticorps, le type d'anticorps recherché.

#### ➤ En fonction de l'antigène

Depuis 1985, les tests ELISA ont fait des progrès considérables, atteignant aujourd'hui, le stade de 4<sup>ème</sup> génération :

**Tests de 1<sup>ère</sup> génération** : Ils ont utilisé comme antigène des lysats de VIH purifiés, obtenus à partir de lignées cellulaires infectées. Leur sensibilité ainsi que leur spécificité étaient faibles. Ils ne sont plus utilisés de nos jours.

**Tests de 2<sup>ème</sup> génération** : Ils utilisaient comme antigène des protéines recombinantes obtenues par génie génétique et/ou des peptides synthétiques du VIH. La spécificité des tests s'était affinée mais ils ne détectaient que les anticorps de type IgG.

**Tests de 3<sup>ème</sup> génération** : Ils utilisent les mêmes antigènes que les tests de 2<sup>ème</sup> génération mais ils permettent de détecter les anticorps de type IgG et IgM, réduisant ainsi la fenêtre sérologique.

**Test de 4<sup>ème</sup> génération** : Ils permettent de détecter simultanément l'antigène p24 et les anticorps anti-VIH en utilisant pour ces derniers le même principe que les tests de 3<sup>ème</sup> génération. Cette double détection permet de réduire encore plus la fenêtre sérologique et de faire un dépistage précoce des cas d'infection.

➤ En fonction du mode de révélation de l'anticorps

### **ELISA indirect**

Le sérum ou le plasma du sujet est ajouté à une phase solide contenant l'antigène et le tout est incubé à une température donnée, pendant une période indiquée par le fabricant du kit. La révélation se fait par une anti-globuline humaine marquée et l'intensité de la coloration obtenue est proportionnelle au taux d'anticorps présents.

### **ELISA par compétition**

Ces tests sont basés sur la différence d'affinité entre les anticorps anti-VIH du patient et les anticorps anti-VIH marqués par une enzyme. Les anticorps du sérum inhibent la liaison des anticorps anti-VIH marqués, à la phase solide. Si la concentration d'anticorps du sérum est élevée, très peu d'anticorps marqués pourront se lier à l'antigène. Ainsi, l'intensité de la coloration sera inversement proportionnelle au taux d'anticorps présents dans le sérum.

### **ELISA sandwich**

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

➤ En fonction du type d'anticorps recherché

**Les tests mono spécifiques** : ils permettent la détection d'un seul sérotype du VIH. C'est-à-dire qu'ils détectent soit les anticorps anti-VIH1, soit les anticorps anti-VIH2.

**Les tests mixtes** : ils détectent simultanément les deux types d'anticorps (anti-VIH1 et anti-VIH2) y compris ceux dirigés contre le sous type O. Cependant, ils ne peuvent pas indiquer le sérotype retrouvé chez le patient.

**Les tests discriminants** : Ils sont capables de détecter les deux sérotypes de manière distincte. Ils permettent donc un sérotypage de l'infection.

### **V.2.2.2- Les tests d'Immunofluorescence**

Ces tests utilisent comme antigène des lignées cellulaires infectées chroniquement par le VIH. La présence des anticorps anti-VIH liés aux cellules infectées est révélée en ajoutant une anti-immunoglobuline humaine (anti-IgG ou anti-IgG + IgM) marquée à l'isothiocyanate de fluorescéine.

Une réaction positive se traduit par une fluorescence verte visible uniquement à la périphérie des cellules infectées. Ce test est moins sensible que les tests ELISA et sa mise en œuvre requiert un microscope à fluorescence et des techniciens bien entraînés.

### **V.2.2.3- Les tests de Radio Immuno-précipitation (RIPA)**

Le principe de cette méthode est basé sur le marquage métabolique du virus par un isotope radioactif (cystéine 35S) qui est incorporé dans la culture virale. Au fur et à mesure que le virus se développe, il incorpore ces constituants marqués dans ses éléments structuraux. Les particules virales matures ainsi marquées sont purifiées, lysées et les protéines sont solubilisées. Ensuite, le lysat viral est mis en contact avec le sérum à tester : les complexes antigène-anticorps qui en résultent sont fixés sur les protéines du gel d'Asepharose, puis ils sont lavés, dénaturés, séparés par électrophorèse sur gel de Poly-Acrylamide-Sulfate de sodium dodecyl (SDS-PAGE). Après séchage, le gel est mis en contact avec un film radiographique qui est développé après une exposition de trois jours.

Le RIPA est un test de confirmation, plus sensible que le western-blot dans la détection des anticorps dirigés contre les protéines d'enveloppe du VIH. Cependant, cette technique est onéreuse et utilise des matériaux radioactifs, c'est pourquoi, ce test est rarement utilisé.

#### **V.2.2.4- Les Western Blot (WB)**

Cette technique permet la détection des anticorps dirigés contre les protéines virales spécifiques. Les protéines virales purifiées sont séparées par électrophorèse sur gel de Poly-Acrylamide Sulfate de sodium dodecyl (SDS-PAGE) et ensuite transférées sur un support qui est une bandelette de nylon ou de nitrocellulose, constituant la phase solide. Les protéines virales apparaissent sous forme de bandes spécifiques sur la bandelette qui permettra de rechercher les anticorps au cours d'une réaction immuno-enzymatique indirecte. En effet, le sérum du patient est incubé avec la bandelette ; après lavage, un anticorps anti-immunoglobuline humaine couplé à une enzyme et son substrat correspondant sont rajoutés pour révéler la liaison des anticorps à chacune des protéines virales. Le profil d'anticorps présents dans l'échantillon permet une interprétation du résultat avec des critères de l'OMS ou du CDC.

Selon l'OMS, un échantillon est dit positif pour l'infection à VIH lorsqu'il contient des anticorps dirigés contre au moins 2 protéines d'enveloppe. Selon le CDC, un échantillon est dit positif pour l'infection au VIH lorsqu'il contient des anticorps dirigés contre une protéine d'enveloppe et une protéine du génome viral *gag* ou *pol*.

#### **V.2.2.5- Les tests d'immuno-analyses en ligne**

Cette technique se réalise aussi sur une bandelette comme le test précédent. Cependant, la bandelette contient moins de protéines virales qui sont, dans ce cas, des peptides recombinants et/ou synthétiques du VIH1 et du VIH2.

Le test Peptilav 1-2<sup>®</sup> de BIO-RAD constitue un exemple de cette technique. C'est un test basé sur l'utilisation de peptides synthétiques représentant les protéines transmembranaires du VIH1 (gp 41) et du VIH2 (gp 36).

#### **V.2.2.6-Les tests rapides**

Les tests rapides sont des tests de réalisation simple ne nécessitant pas d'équipement supplémentaire ni de personnel très qualifié. Ils permettent d'obtenir un résultat en moins de 30 minutes, avec un coût de revient réduit. Ils sont donc très adaptés à un dépistage de masse et utilisables dans les laboratoires périphériques.

Plusieurs tests rapides ont donné des performances satisfaisantes en Afrique et sont utilisés dans plusieurs pays du sud du Sahara pour le dépistage de masse de l'infection à VIH dans le cadre du dépistage volontaire ou dans les programmes de prévention de la transmission mère-enfant du VIH (2, 47). Ils peuvent être classés selon le support et le principe utilisé.

##### ➤ Selon le support

Il existe 3 principaux supports : les cassettes ou savonnettes (exemple : Genie III HIV-1/HIV-2<sup>®</sup> de BIORAD) ; les bandelettes (exemple : Determine<sup>®</sup> de ALERE) et les autres types de support tels que les lames (exemple : Capillus<sup>®</sup> de CAMBRIDGE BIOTECH).

##### ➤ Selon le principe

Il existe les réactions d'agglutination et les réactions d'immuno-marquage. Dans les réactions d'agglutination, les antigènes du VIH sont fixés sur des particules de latex ou des hématies. Une réaction positive se traduit par la formation d'agglutinats visibles à l'œil nu.

Les réactions d'immuno-marquage diffèrent selon le type de migration et le mode de révélation de la réaction antigène-anticorps.

### V.2.3-CINETIQUE DES MARQUEURS AU COURS DE L'INFECTION A VIH-1

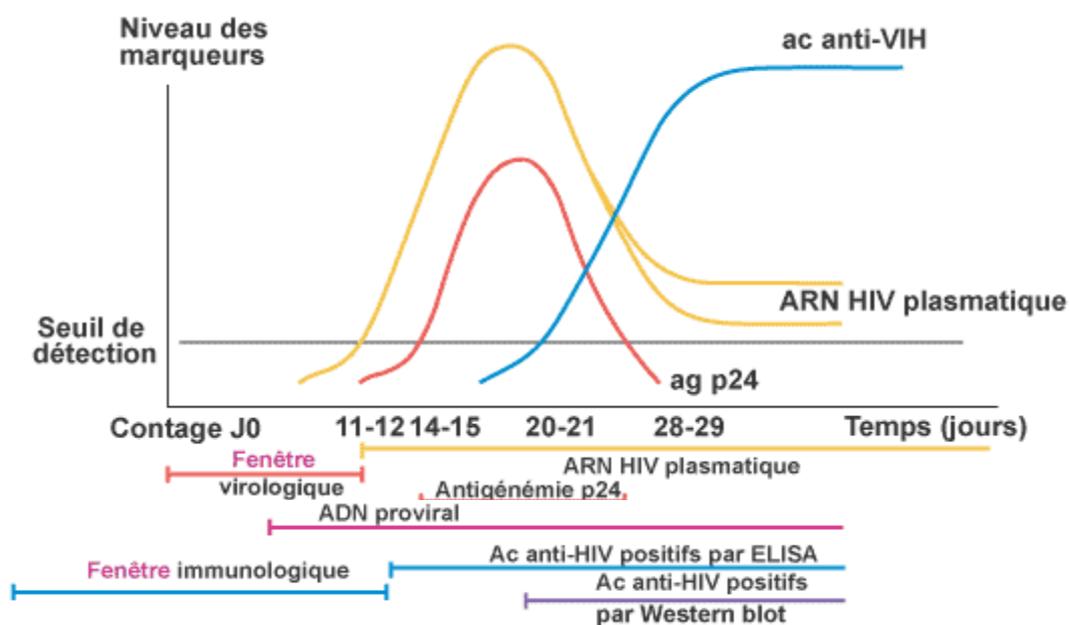
Au cours de l'évolution de l'infection apparaissent successivement les marqueurs suivants (**figure 4**) :

- l'ARN ou ADN viral ;
- l'antigène p24 ;
- les anticorps anti-VIH1 apparaissent à un niveau détectable, 6 à 8 semaines après l'infection. Ils sont essentiellement dirigés contre deux catégories de protéines de structure virales :
  - ✓ les glycoprotéines de l'enveloppe (gp120 ; gp41 ; gp160) ;
  - ✓ la protéine majeure du core.

Quand la maladie progresse, les anticorps dirigés contre les autres protéines virales (p17 ; transcriptase inverse (p66/51) ; endonucléase (p34) ; et protéines de régulation) deviennent détectables. Mais, ils ne sont pas retrouvés dans la même proportion : leur quantité varie selon le stade de la maladie. Les anticorps dirigés contre les glycoprotéines de l'enveloppe demeurent présents jusqu'au stade terminal. C'est pourquoi ils constituent les meilleurs marqueurs de dépistage.

#### **Remarque :**

La cinétique des anticorps anti-VIH2 est très faiblement documentée.



**Figure 4:** Cinétique des marqueurs sériques au cours de l'infection à VIH-1  
(13)

## V.3- LES STRATEGIES DE DEPISTAGE

### V.3.1-DEFINITIONS

**Stratégie :** la stratégie de dépistage est l'utilisation d'un test ou d'un algorithme approprié pour identifier des échantillons positifs.

**Algorithme :** l'algorithme d'analyse pour le diagnostic sérologique de l'infection à VIH est la séquence suivant laquelle s'effectuent les essais destinés à détecter des anticorps anti-VIH dans un liquide organique.

L'OMS distingue deux types de stratégies (16) :

- La stratégie classique
- La stratégie alternative.

### V.3.2-STRATEGIE CLASSIQUE

Elle consiste à faire systématiquement un ou deux tests ELISA sur tous les échantillons. Tous les sérums donnant une réactivité positive au(x) test(s) ELISA sont retestés par le Western Blot.

Cette stratégie est très coûteuse. De plus, le nombre de profils indéterminés obtenus est élevé (1 à 2%) avec le WB. Ces profils indéterminés sont dus à un début de séroconversion ou à une réaction croisée, soit avec le VIH1 du groupe O, soit avec le VIH2. Cette stratégie est en vigueur dans les pays développés.

### V.3.3-STRATEGIES ALTERNATIVES

Pour faire face aux difficultés de la stratégie classique, entre autres, le coût élevé du Western Blot, la nécessité d'une chaîne ELISA et d'un personnel hautement qualifié, l'OMS et le CDC recommandent trois stratégies alternatives **(16) (Tableau I)**.

Le choix d'une stratégie repose notamment sur les critères suivants :

- l'objectif du test (diagnostic, surveillance, sécurité transfusionnelle ou recherche) ;
- la sensibilité et la spécificité du/ou des tests utilisés ;
- la prévalence du VIH dans la population testée.

**Tableau I:** Recommandations de l'OMS pour le choix de stratégies de dépistage de l'infection à VIH (16).

Objectif du dépistage		Prévalence de l'infection à VIH	Stratégie
Sécurité transfusions /greffe		Toutes prévalences	I
Surveillance épidémiologique		> 10%	I
		≤ 10%	II
Diagnostic	Sujets symptomatiques SIDA	30%	I
		≤ 10%	II
	Sujets asymptomatiques	>10%	II
		≤ 10%	III

▪ **Stratégie I**

Dans cette stratégie, il est recommandé un seul test ELISA ou un test rapide très sensible.

▪ **Stratégie II**

Il est recommandé dans cette stratégie, d'utiliser d'abord un test ELISA ou un test rapide sensible. Un sérum positif à ce premier test est retesté par un second test ELISA ou un test rapide plus spécifique, mais de principe ou de préparations antigéniques différentes. Si le sérum réagit au second test, le résultat est considéré positif. Mais si le sérum ne réagit pas au second test, il doit subir à nouveau ces deux tests au moins deux semaines plus tard, afin de trancher entre

une séroconversion et une réactivité non spécifique. Si les résultats demeurent discordants, le sérum est qualifié d'indéterminé et doit faire l'objet de tests complémentaires.

### ▪ **Stratégie III**

Cette stratégie utilise trois tests successifs ELISA et/ou tests rapides ayant des préparations antigéniques différentes et/ou des principes différents.

Le 1<sup>er</sup> test doit avoir une sensibilité très élevée ; les 2 autres doivent être plus spécifiques que le premier.

## V.3.4-STRATEGIES DE DEPISTAGE EN CÔTE D'IVOIRE

De Mai 2009 à Novembre 2012, l'algorithme utilisé pour le dépistage du VIH en Côte d'Ivoire était :

- Determine<sup>®</sup> + HIV 1/2 STAT-PAK<sup>®</sup> (pour les postes de dépistage)
- Determine<sup>®</sup> + SD Bioline<sup>®</sup> + HIV 1/2 STAT-PAK<sup>®</sup> (pour les laboratoires).

## VI- TRAITEMENT

### VI.1-PRINCIPE

Le traitement antirétroviral vise à rendre indétectable la charge virale plasmatique et restaurer le système immunitaire par l'augmentation du taux de lymphocytes CD4/mm<sup>3</sup> de sang, concourant ainsi à assurer une meilleure qualité de vie aux malades (9).

### VI.2- LES ANTIRETROVIRAUX

Les antirétroviraux disponibles pour la prise en charge du VIH sont classés en différentes familles en fonction de leur mécanisme d'action.

On distingue: les inhibiteurs de la transcriptase inverse, les inhibiteurs de la protéase, les inhibiteurs de fusion ou d'entrée, Les inhibiteurs du CCR5, Les inhibiteurs de l'intégrase.

✓ Les inhibiteurs de la transcriptase inverse : ils sont subdivisés en deux sous-groupes :

-Les inhibiteurs nucléosidiques (INRT) et nucléotidiques (INtRT) : Prodrogues qui rentrent en compétition avec les substrats naturels de la transcriptase inverse et inhibent l'action de cette dernière. Ils bloquent ainsi la fabrication de l'ADN proviral (**30**). Ces molécules sont actives sur les deux types de VIH : le VIH1 et le VIH2 (**25**). Exemple : Zidovudine (AZT), Didanosine (Ddi) stavudine (D4T), Abacavir (ABC) ; Tenofovir disoproxil fumarate (TDF).

-Les inhibiteurs non nucléosidiques (INNRT) : Ils se fixent au niveau d'une poche hydrophobe adjacente au site catalytique de la transcriptase inverse, entraînant une modification de la conformation et de la mobilité de l'enzyme. Ces modifications inactivent l'enzyme et freinent la multiplication virale. Ils agissent directement sans être phosphorylés. Ces molécules sont inactives sur le VIH2. Exemple : Nevirapine (NVP), Efavirenz (EFV), Etravirine (ETV).

✓ Les inhibiteurs de la protéase (IP) : ils s'insèrent dans la structure cylindrique des protéases sans étape intermédiaire d'activation. Ils sont actifs à la fois sur les VIH de types 1 et 2. Exemple : Saquinavir, Indinavir, Ritonavir.

✓ Les inhibiteurs de fusion ou d'entrée : leur mode d'action consiste à bloquer la fusion entre la membrane virale et la membrane de la cellule cible Exemple : Enfuvirtide dans FUZEON<sup>®</sup>.

✓ Les inhibiteurs du CCR5 : ces molécules inhibent de façon non compétitive le corécepteur CCR5 du VIH qui est essentiel à l'entrée du virus dans les monocytes et les macrophages. Exemple : Le Maraviroc dans Celcentri<sup>®</sup>.

✓ Les inhibiteurs de l'intégrase : Les inhibiteurs de l'intégrase appartiennent à une classe d'antirétroviraux récemment introduite en thérapie.

Ces molécules inhibent l'intégration de l'ADN proviral à celle de la cellule infectée, aboutissant à l'inhibition de la réplication virale **(44)**.

Exemple : le raltégravir (Isentress<sup>®</sup>), seule molécule disponible actuellement ; l'elvitégravir, et le dolutégravir sont actuellement en essais cliniques de phase III.

### **VI.3-CRITERES D'ELIGIBILITE CHEZ L'ADULTE ET L'ADOLESCENT EN CÔTE D'IVOIRE**

En s'appuyant sur les recommandations de l'OMS, la Côte d'Ivoire a établi des critères d'éligibilité au traitement. Peuvent donc commencer le traitement antirétroviral, tout patient adulte et enfants de plus de 5 ans **(19)** :

- asymptomatiques (OMS 1, CDC A) ou Stades cliniques OMS 2-3 ou CDC B, ayant un nombre de CD4 inférieur ou égal à 350 cellules/ml ;
- aux stades cliniques OMS 4 ou CDC C quelque soit la valeur des CD4.

### **VI.4-PROTOCOLE THERAPEUTIQUE**

Le **tableau II** résume les schémas thérapeutiques adoptés par le ministère de la santé et de la lutte contre le sida en Mai 2012.

**Tableau II:** Schéma thérapeutique utilise chez l'adulte et chez l'adolescent en Côte d'Ivoire.

<b>Indication</b>	<b>Première ligne</b>		<b>Deuxième ligne</b>	
<b>Sérotype</b>	<b>VIH1</b>	<b>VIH2/VIH Dual</b>	<b>VIH1</b>	<b>VIH2/VIH Dual</b>
<b>Traitement</b>	AZT+3TC+NVP	AZT+3TC+LPV/RTV	TDF+3TC+LPV/RTV	Centres de références

#### **V.4-PREVENTION DE L'INFECTION A VIH**

Face à la progression sans cesse croissante de l'épidémie, la prévention demeure l'arme incontournable de lutte contre l'infection à VIH/sida.

En l'absence de vaccin, la prévention de l'infection passe par une rupture de la chaîne de transmission du VIH. Pour cela, plusieurs mesures combinées sont utilisées.

- la sensibilisation pour une responsabilisation dans le comportement sexuel. Elle passe par des campagnes d'éducation sanitaire de masse ou ciblées. Même si celles-ci se heurtent quelques fois à des barrages socioculturels, leur objectif est d'aboutir à la fidélité dans les couples, à l'abstinence et à l'utilisation de préservatifs masculins et féminins ;
- la sécurisation des dons de sang et d'organes par le dépistage systématique des produits prélevés chez les donneurs en utilisant des tests très sensibles ;
- l'utilisation de matériels d'injection à usage unique ;

- la prévention de la transmission mère-enfant par le dépistage du VIH chez les femmes enceintes avec l'administration, selon un schéma, d'antirétroviraux aux femmes enceintes dépistées positives ainsi qu'à leur enfant **(16)**. Cette mesure doit être couplée, soit à l'allaitement maternel exclusif, soit à l'allaitement artificiel de l'enfant ;
- le traitement en post-exposition du personnel soignant victime d'un accident d'exposition aux produits biologiques.

**DEUXIEME PARTIE :**  
**ETUDE EXPERIMENTALE**

## **I- MATERIEL ET METHODES**

### **I.1-TYPE ET CADRE D'ETUDE**

Il s'agit d'une étude expérimentale d'évaluation en phase II d'un algorithme de dépistage du VIH/sida, qui s'est déroulée de Septembre à Novembre 2012 dans trois structures sanitaires de la ville d'Abidjan (Sites évaluateurs) : le Centre de suivi des donneurs (Centre National de Transfusion Sanguine), le Centre de Prise en charge de Recherche et de Formation sur le VIH (CePReF) et l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire (IPCI).

Les tests de références ont été réalisés au Centre de Diagnostic et de Recherche sur le Sida et les infections opportunistes (CeDReS).

Ces sites d'évaluation ont été sélectionnés en tenant compte de leur volume d'activité et l'expérience acquise lors d'évaluations antérieures.

### **I.2-MATERIEL**

#### **II.2.1-SPECIMEN D'ETUDE**

Notre étude a été réalisée sur des échantillons de sang total veineux au poste de dépistage et de sérum/plasma au laboratoire. Ces échantillons ont été collectés chez des patients venus pour un dépistage de l'infection à VIH ou un bilan initial.

Chaque client a donné son accord oral pour le dépistage de l'infection à VIH et un consentement écrit qui certifie sa participation à l'étude.

#### **II.2.2- APPAREILLAGE, REACTIFS ET PETIT MATERIEL DE LABORATOIRE**

Pour la réalisation de notre étude, nous avons utilisé le matériel ci-dessous :

- Des gants à usage unique ;

- Des aiguilles sous vide ;
- Des corps vacutainer ;
- Du papier absorbant ;
- De l'eau distillée et de l'eau de javel à 8° ;
- Des micropipettes multicanaux et uni canaux avec des embouts de 20µl, 200µl et 1000µl ;
- Des pipettes graduées de 5 ml et de 10 ml ;
- Des cryotubes 2 ml à vis avec joint de sécurité ;
- Des cryoboites ;
- Des éprouvettes graduées de 100 ml, de 250 ml et de 500 ml ;
- Des tubes Falcon ;
- Des tubes de prélèvement à bouchon rouge, à bouchon violet (anticoagulant : EDTA) et à bouchon vert (anticoagulant :héparinate de Lithium) ;
- Un mélangeur de type vortex ;
- Une centrifugeuse ;
- Un chronomètre ;
- Une chaîne ELISA PW 40 de BIO-RAD, composée d'un incubateur à 37°C, d'un laveur de microplaques d'un lecteur spectrophotométrique et d'une imprimante ;
- Le test Determine<sup>®</sup> de ALERE ;
- Le test STAT-PAK<sup>®</sup> de Chembio;
- Le test Genie III HIV-1/HIV-2<sup>®</sup> de BIORAD ;
- Le test ELISA Murex<sup>®</sup> VIH 1.2.0 de DIASORIN ;
- Le test ELISA peptidique dit ELISA « MAISON » en vigueur au CeDReS ;
- Le test INNO-LIA<sup>™</sup> HIV I/II Score d'INNOGENETICS.

### **I.3- METHODES**

Le protocole d'étude a été approuvé par le comité national d'éthique et de la recherche du Ministère de la Santé et de la Lutte contre le Sida (CNER). Notre étude a comporté une analyse biologique et une analyse statistique.

#### **I.3.1- ANALYSES BIOLOGIQUES**

##### **I.3.1.1- Collecte des échantillons**

Les prélèvements ont été réalisés aussi bien au site de dépistage qu'au laboratoire.

###### **➤ AU SITE DE DEPISTAGE**

Le prélèvement a concerné les sujets sélectionnés sur la base d'un résultat de dépistage négatif au niveau des postes de dépistage selon l'algorithme en vigueur (Determine<sup>®</sup> Négatif).

###### **➤ AU LABORATOIRE**

Le prélèvement a été réalisé chez les personnes venues pour un bilan initial ou un bilan de suivi biologique dans le site d'évaluation. Certains sujets ont été convoqués sur la base de leur sérotype connu, selon l'algorithme en vigueur (Determine<sup>®</sup> + SD Bioline<sup>®</sup> +/- Stat-Pak<sup>®</sup>).

Les échantillons ont été obtenus à partir de sang total veineux réalisés au pli du coude sur tube sec ou tube avec anticoagulant (éthylène diamine tétracétique ou héparinate de lithium). Après centrifugation, le sérum/ plasma obtenu a été utilisé pour réaliser le test Genie III<sup>®</sup> et un aliquote réalisé en vue de l'acheminement au CeDReS en respectant les règles d'hygiène et de biosécurité.

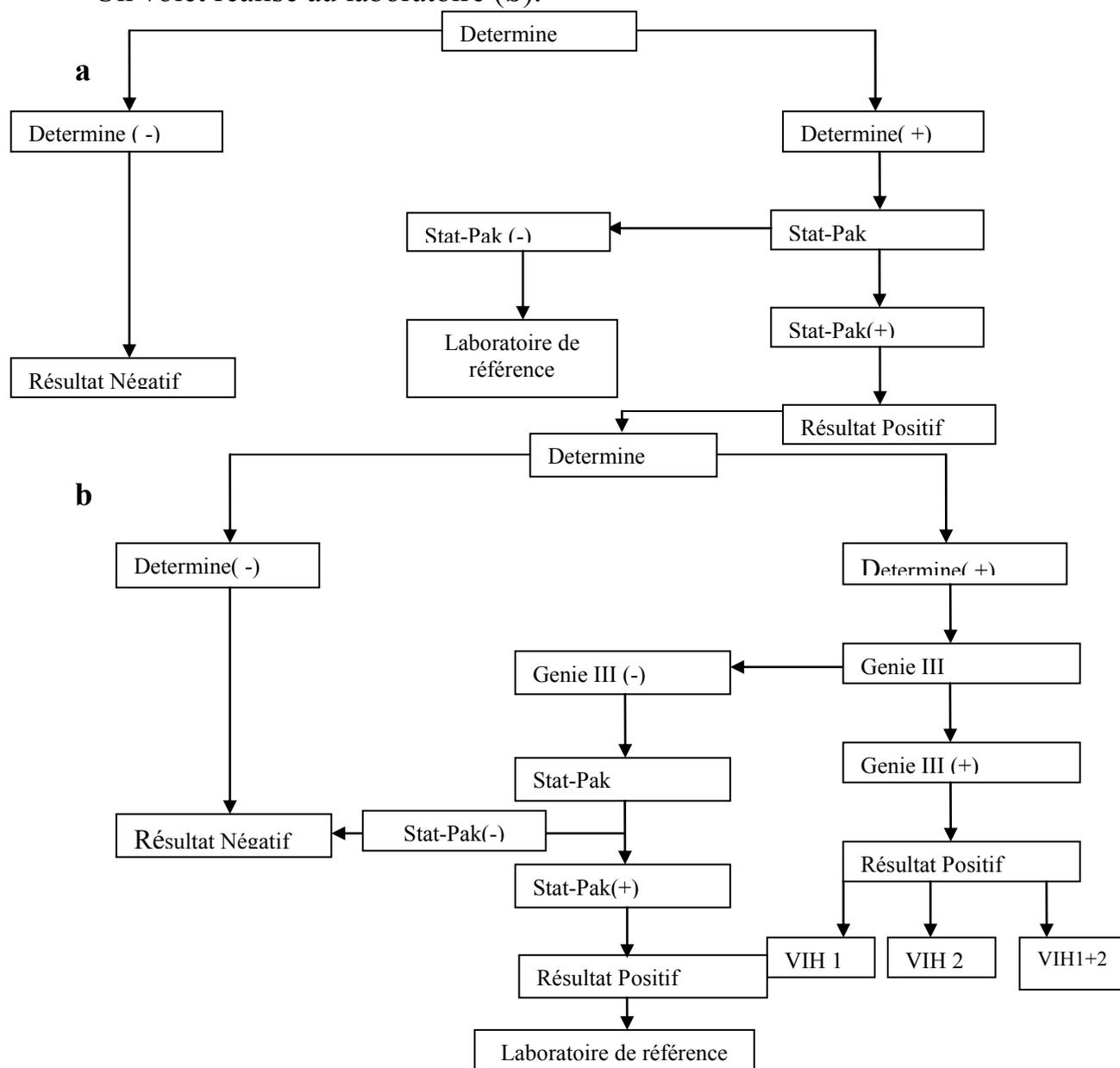
### I.3.1.2. Présentation des Algorithmes

#### ❖ Algorithme évalué

L'algorithme évalué comporte deux volets (**Figure 5**) :

- Un volet réalisé au poste de dépistage (**a**)

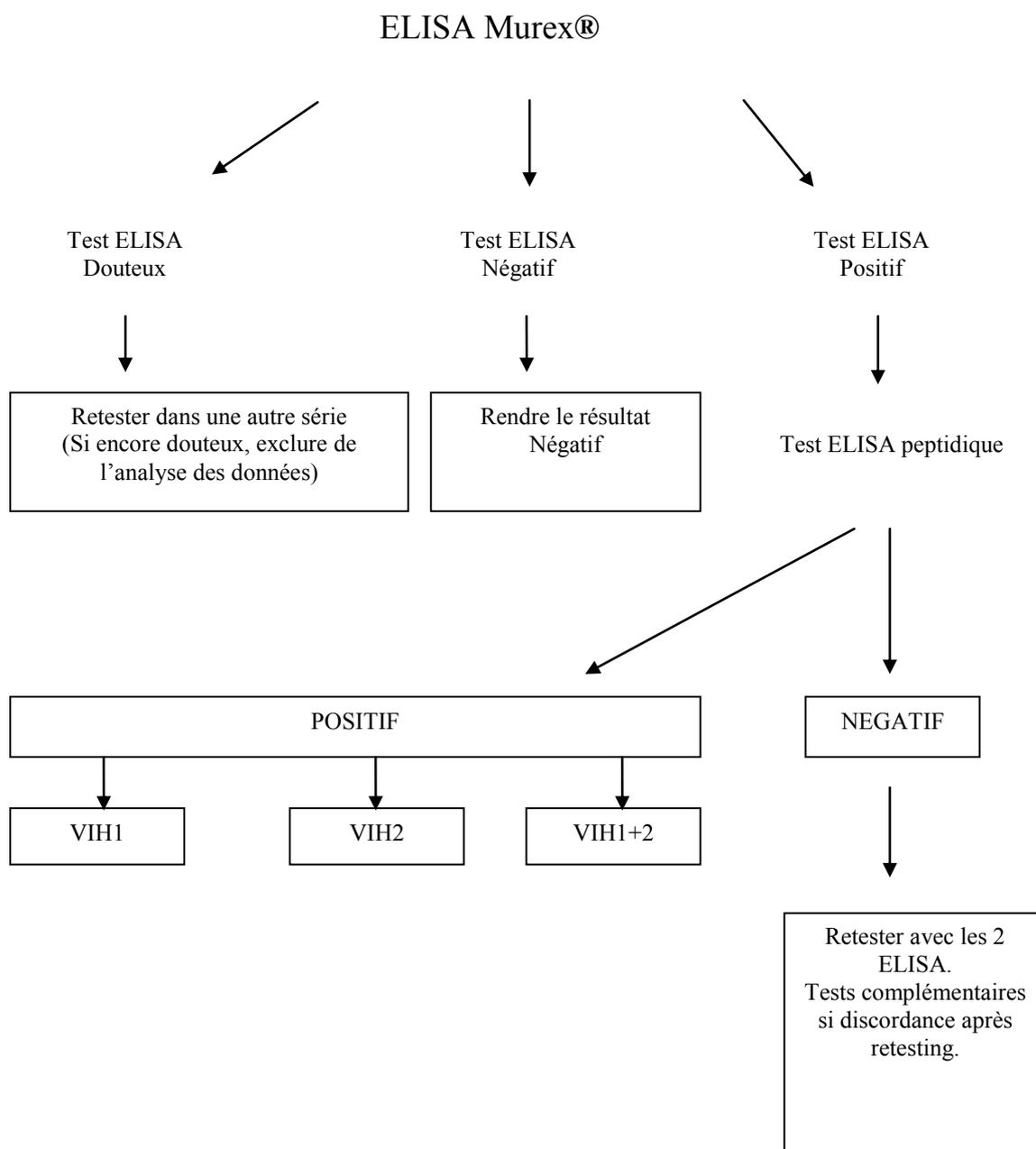
- Un volet réalisé au laboratoire (**b**).



**Figure 5** : Algorithme de dépistage évalué

### ❖ Algorithme de référence

L'algorithme de référence a utilisé de façon séquentielle le test ELISA Murex<sup>®</sup> et le test ELISA peptidique en vigueur au CeDReS (**figure 6**).



**Figure 6** : Algorithme de référence pour l'évaluation des tests rapides

### **I.3.1.3- Réalisation des tests**

Sur les sites évaluateurs, le test Genie III<sup>®</sup> a été réalisé sur sérum/plasma, exclusivement par le personnel du laboratoire identifié et formé au cours des séances de coaching précédant l'évaluation.

Les tests Determine<sup>®</sup> et Stat-Pak<sup>®</sup> ont été réalisés par le personnel du laboratoire selon les procédures de dépistage en vigueur.

Les tests de référence ont été réalisés au CeDReS à partir d'aliquote de sérum/plasma provenant des sites évaluateurs.

Tous les tests ont été réalisés selon les instructions des fabricants.

Tous les échantillons discordants entre l'algorithme évalué et l'algorithme de référence ont été retestés pour identifier d'éventuelles erreurs de transcription ou de reproductibilité. En cas de persistance de la discordance, des tests complémentaires ont été réalisés :

- Pour le dépistage : le test Vironostika<sup>®</sup> dont le résultat a été pris pour résultat définitif.
- Pour le sérotypage : réalisation des tests Innolia<sup>®</sup> et/ou Peptilav<sup>®</sup>.

#### **I.3.1.3.1-Determine HIV-1/2<sup>®</sup> de Alere**

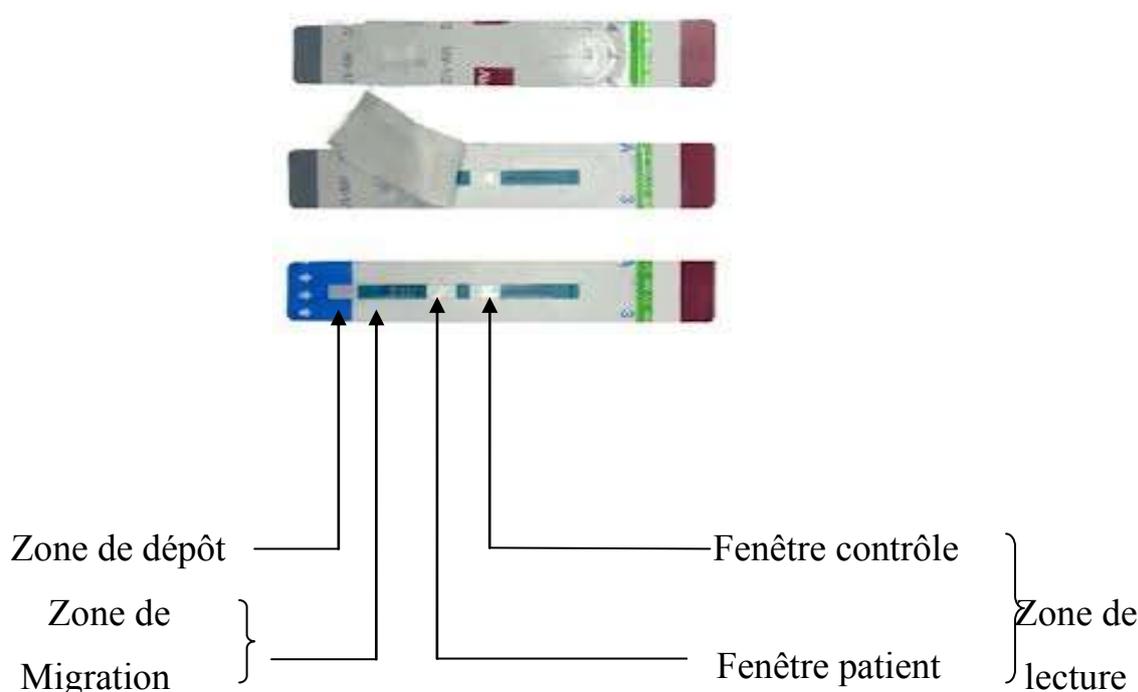
##### **I.3.1.2.1.1- Présentation**

Alere Determine<sup>®</sup> HIV-1/2 est un test rapide unitaire de détection qualitative des anticorps anti-VIH-1/2 dans le sérum, le plasma ou le sang total humain.

Il se présente sous forme de bandelette protégé par un emballage contenant 100 tests et se conservant à une température comprise entre 2 et 30°C.

Le test Determine<sup>®</sup> HIV-1/2 comprend 3 parties (**Figure 7**) :

- une zone de dépôt de l'échantillon
- une zone de migration comprenant le conjugué (Antigènes du VIH combinés aux Colloïdes de Sélénium)
- une zone de lecture subdivisée en deux parties :
  - une fenêtre patient où sont immobilisés les peptides synthétiques du VIH-1/VIH-2
  - une fenêtre contrôle où sont immobilisés les anticorps Anti-selenium.



**Figure n°7** : Test de dépistage rapide Determine HIV-1/2<sup>®</sup>

#### I.3.1.2.1.2-Principe

Le test DETERMINE<sup>™</sup> HIV1/2 de Alere utilise une réaction d'immunochromatographie pour la détection des anticorps anti-VIH1 et VIH2.

L'échantillon est déposé sur la zone de dépôt de l'échantillon et migre par capillarité le long de la bandelette. Si l'échantillon contient des anticorps anti-VIH, ceux-ci se lient au conjugué (Antigène du VIH fixés aux colloïdes de

sélénium) au niveau de la zone de migration pour former des complexes anticorps-antigène-Sélénium (Ac-AgSe).

Ces complexes migrent vers la zone de lecture et se fixent aux peptides synthétiques du VIH immobilisés au niveau de la fenêtre patient de la bandelette induisant l'apparition d'une bande de couleur rouge.

La bande contrôle est formée par les Ac Anti-sélénium immobilisés au niveau la fenêtre contrôle qui captent les particules de sélénium libres (non fixés aux Ac Anti VIH) formant une bande rouge.

#### **I.3.1.2.1.3- Mode opératoire**

- Retirer le nombre nécessaire des bandelettes et remettre le reste dans la poche avec dessiccateur en respectant la sécurité de fermeture.
- Détacher la membrane recouvrant la bandelette en tirant à partir d'en haut de la bandelette.
- Prélever 50 µl de l'échantillon (plasma, sérum et/ou du sang total) à l'aide d'une micropipette, et les déposer dans la zone de dépôt.
- Si c'est le sang total qui est testé, après l'absorption de sang, ajouter 1 goutte de tampon.
- Attendre la diffusion complète et lire le résultat 15 minutes après le dépôt.
- Au delà de 60 minutes, la lecture n'est pas recommandée.

#### **I.3.1.2.1.4- Résultats**

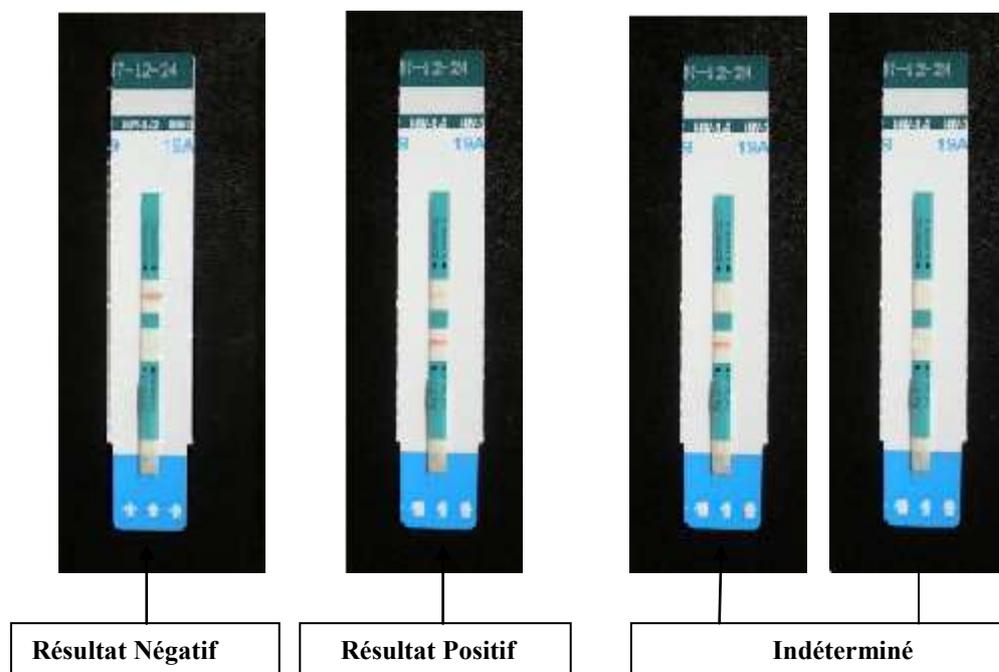
Le test est valide, que si la barre rouge apparaît dans la fenêtre contrôle C.

Le test est déclaré positif s'il apparaît une bande rouge à la fenêtre patient, par contre le test est déclaré négatif en cas d'absence de cette deuxième bande.

Le test Determine<sup>®</sup> est qualitatif et non quantitatif. Pour cela l'intensité de la coloration de la barre rouge n'influence pas la positivité du test.

Il est recommandé de ne tenir compte que de la présence ou de l'absence de la barre rouge.

Les résultats sont représentés par la **figure 8**



**Figure 8** : Interprétation des résultats du test Determine HIV-1/2<sup>®</sup>

### I.3.1.3.2-STAT-PAK HIV 1/2<sup>®</sup> de Chembio

#### I.3.1.3.2.1-Présentation

Le STAT-PAK HIV 1/2<sup>®</sup> de Chembio est un test rapide unitaire de détection qualitative des anticorps anti-VIH1 et VIH-2 dans le sang total, le sérum ou le plasma.

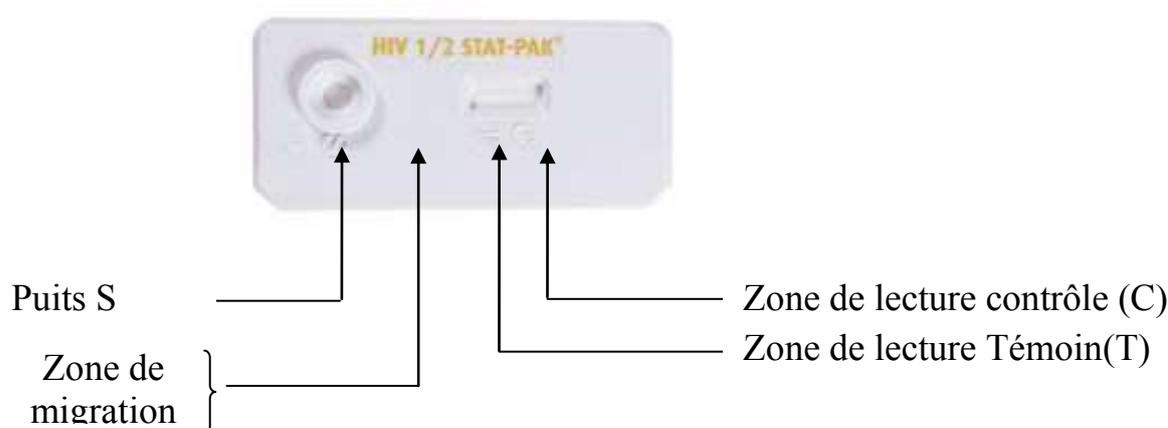
Il se présente sous forme de cassette protégé par des emballages unitaires scellés. Chaque kit contient 20 tests pouvant se conserver à une température comprise entre 8 et 30°C.

Le test STAT-PAK HIV 1/2<sup>®</sup> comprend trois parties : (**figure 9**)

- Un puits S destiné au dépôt de l'échantillon ;

- Une zone de migration comprenant le conjugué (protéines du VIH combinées à l'or colloïdal) ;
- Une zone de lecture comprenant une zone test (T) et une zone de contrôle(C). Au niveau de la zone test sont immobilisés les antigènes du VIH.

Au niveau de la zone de contrôle sont immobilisés des anticorps anti IgG.



**Figure n9** : Test de dépistage rapide STAT-PAK HIV 1/2<sup>®</sup>

#### **I.3.1.3.2.2- Principe**

Le test STAT-PAK HIV1 / 2<sup>®</sup> utilise une réaction d'immunochromatographie pour la détection qualitative des anticorps anti-VIH1 et VIH-2 dans le sérum/plasma et le sang total humain.

L'échantillon est introduit au niveau du puits (S) et migre par capillarité le long de la membrane. Si l'échantillon contient des anticorps anti-VIH, ceux-ci se lient au conjugué (protéines du VIH fixés à l'or colloïdal) au niveau de la zone de migration pour former des complexes immuns.

Ces complexes migrent vers la zone de lecture et se fixent aux Antigènes du VIH immobilisés au niveau de la zone test (T), induisant l'apparition d'une ligne de couleur rose/violet.

L'apparition de la coloration de la bande de contrôle est générée par la formation d'un immun complexe entre les anticorps anti-IgG (fixés au niveau de la zone contrôle) et les IgG contenus dans le spécimen biologique.

#### **I.3.1.3.2.3- Mode opératoire**

Les étapes nécessaires pour la réalisation du test STAT-PAK HIV1/2 sont les suivants :

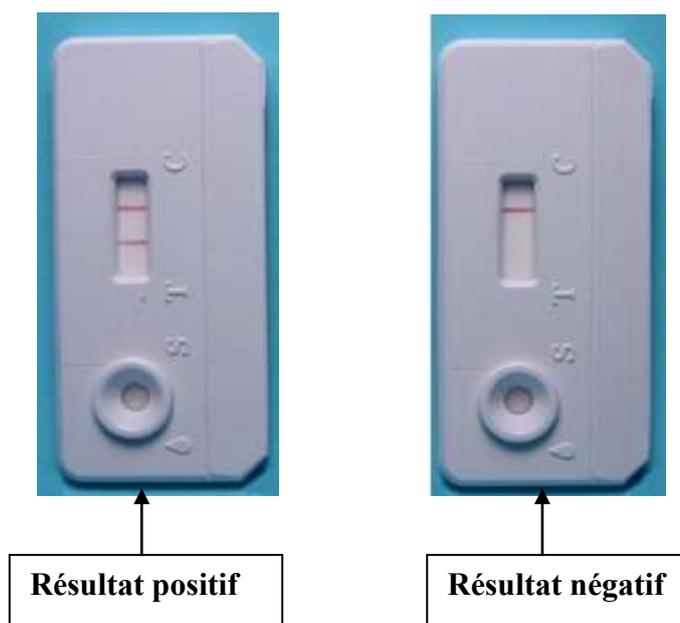
- Retirer le nombre de tests nécessaire de leur emballage ;
- Placer les tests sur une surface plane ;
- Prélever 5 µl d'échantillon (sérum, plasma ou sang total) et déposer au niveau du puits S de la cassette ;
- Y ajouter lentement 3 gouttes du tampon ;
- S'il n'y a pas de migration après 3 minutes, ajouter une goutte de plus de tampon ;
- Lire les résultats au bout de 10 minutes après la première addition de tampon.

#### **I.3.1.3.2.4- Résultats**

Le test est valide, que si la ligne rose/violet apparaît dans la zone contrôle C.

Le test est déclaré positif s'il apparaît une ligne rose/violet dans la zone témoin T, par contre le test est déclaré négatif en cas d'absence de cette deuxième ligne.

Les résultats sont représentés par la **Figure 10**.



**Figure 10** : Interprétation des résultats du test STAT-PAK HIV1/2<sup>®</sup>.

### **I.3.1.3.3- Le test Genie III HIV-1/HIV-2<sup>®</sup> de BIORAD**

#### **I.3.1.3.3.1- Présentation du test**

Le GENIE III<sup>®</sup> HIV-1/HIV-2 de BIO-RAD est un test rapide unitaire de détection et de différenciation des anticorps anti-VIH1 et VIH2 dans le sérum, le plasma ou le sang total humain.

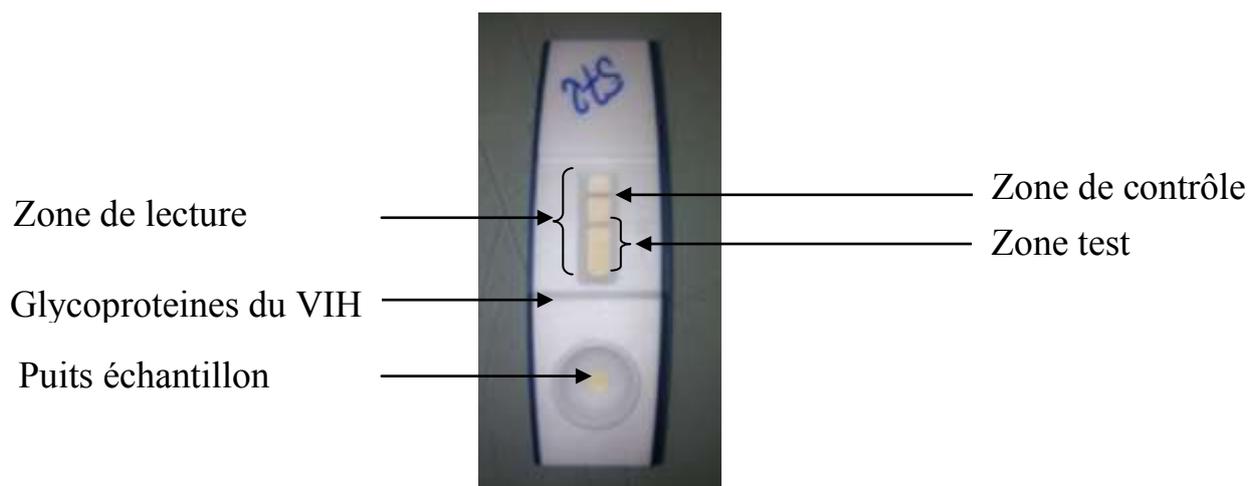
Il se présente sous forme de cassette protégé par des emballages unitaires scellés. Chaque kit contient 50 tests pouvant se conserver à une température comprise entre 2-30°C.

Le test GENIE III<sup>®</sup> se compose de trois parties (**figure 11**)

- Un puits échantillon destiné au dépôt de l'échantillon
  - Une zone de migration comprenant le conjugué (protéines du VIH1 et VIH2 combinées à l'or colloïdal)
  - Une zone de lecture comprenant la zone test et la zone de contrôle.
- Au niveau de la zone test sont immobilisés les antigènes du VIH en deux bandes : une bande avec les protéines recombinantes de

l'enveloppe et protéines GAG du VIH1 et une autre bande avec les peptides synthétiques du VIH 2:

Au niveau de la zone de contrôle sont immobilisés des anticorps anti IgG.



**Figure 11** : Test de dépistage rapide GENIE III<sup>®</sup> HIV-1/HIV-2

#### **I.3.1.3.3.2- Principe du test**

Le test GENIE IIIHIV-1/HIV-2<sup>®</sup> utilise une réaction d'immunomarquage ou d'immunochromatographie pour la détection des anticorps anti-VIH1 et anti-VIH2 dans le sérum/plasma et le sang total humain.

L'échantillon est introduit au niveau du puits échantillon et migre par capillarité le long de la membrane. Si l'échantillon contient des anticorps anti-VIH, ceux-ci se lient au conjugué (protéines du VIH fixés à l'or colloïdal) au niveau de la zone de migration pour former des complexes immuns.

Ces complexes migrent vers la zone de lecture et se fixent aux peptides du VIH immobilisés au niveau de la zone test de la membrane nitrocellulosique induisant l'apparition d'une ligne de couleur rose/rouge. Le(s) bande(s)

apparaissant au niveau de cette zone test permet (tent) de déterminer le(s) sérotype(s) en cause.

L'apparition de la coloration de la bande de contrôle est générée par la formation d'un immuncomplexe entre les anticorps anti-IgG (fixés au niveau de la zone contrôle) et des IgG contenus dans le spécimen biologique. En effet, cet immuncomplexe va immobiliser le conjugué en cours de migration.

#### **I.3.1.3.3- Mode opératoire**

- Retirer le test de l'emballage et l'utiliser extemporanément
- Placer la cassette sur une surface plane et propre
- Prélever 25 µl d'échantillon et déposer au niveau du puits de la cassette
- Y ajouter immédiatement deux gouttes de réactifs de lavage
- Démarrer le chronomètre et faire la lecture après 15 mn; le résultat est stable 25 min après l'application de l'échantillon.

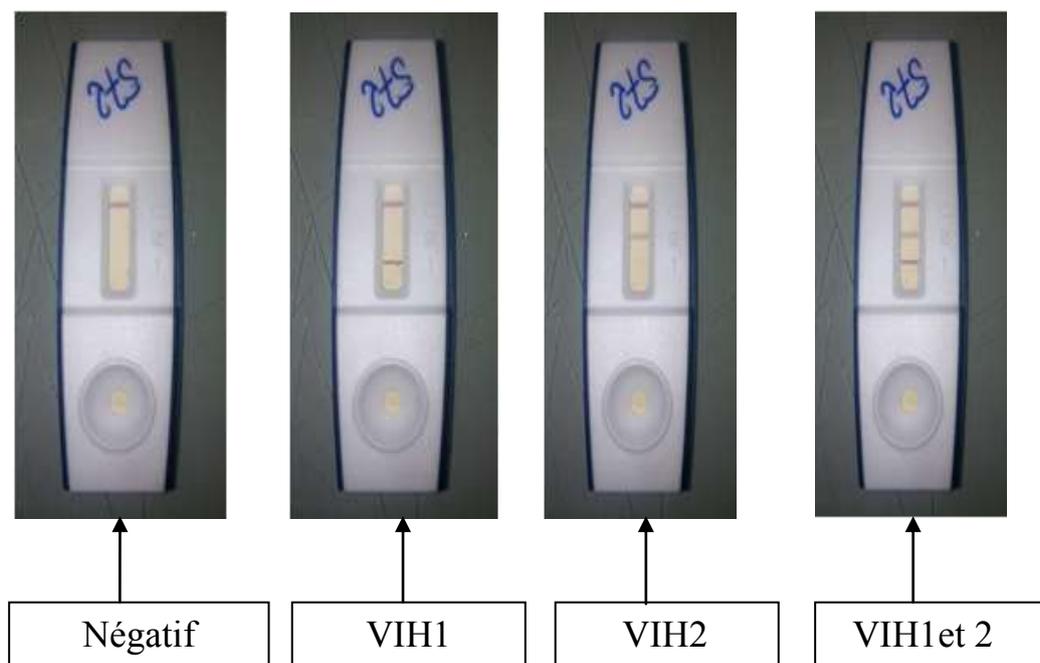
#### **I.3.2.3.3.4- Interprétation des résultats**

L'apparition d'une bande colorée dans la zone de contrôle « C » permet de valider le test.

Lorsque le test est valide, la présence d'une ligne de couleur rose/rouge dans la zone test signe un résultat positif. En fonction de la position de cette bande, l'échantillon sera déclaré positif pour le VIH1, VIH2 ou les deux.

Lorsque le test est valide, l'absence de ligne de couleur rose/rouge dans la zone test signe un résultat négatif, c'est-à-dire que le spécimen ne possède pas d'anticorps anti-VIH1 et anti-VIH2.

Les différents résultats possibles sont représentés par la **figure 12**.



**Figure 12** : Interprétation des résultats du test GENIE III<sup>®</sup> HIV-1/HIV-2<sup>®</sup>

#### **I.3.1.3.4- Le test ELISA Murex**

##### **I.3.1.3.4.1-Présentation**

C'est un test ayant pour support des microplaques dont les cupules sont recouvertes d'un peptide synthétique représentatif d'une région immunodominante du VIH-1 (groupe O), d'une protéine recombinante dérivée des protéines d'enveloppe du VIH1 et du VIH2, d'une protéine codée par le gène Pol du VIH et d'anticorps monoclonaux dirigés contre la protéine p24 du VIH1. Le conjugué est un mélange des mêmes épitopes d'antigènes et de différents anticorps monoclonaux également dirigés contre la p24, tous marqués à la peroxydase de raifort.

##### **I.3.1.3.4.2- Principe**

Les échantillons à analyser et les contrôles sériques sont incubés dans les cupules. L'antigène de core du VIH et/ou les anticorps anti-VIH présents dans l'échantillon ou les contrôles sériques se lient aux anticorps et/ou aux antigènes

fixés dans la cupule. L'échantillon et tout excès d'anticorps sont ensuite éliminés par lavage. Lors de l'étape suivante, le conjugué est ajouté et se lie à tout antigène de core du VIH et/ou aux anticorps spécifiques déjà liés aux réactifs sur la cupule. Les échantillons ne contenant pas l'antigène de core ni l'anticorps spécifique n'entraîneront pas la fixation du conjugué à la cupule. Le conjugué non lié est éliminé par lavage et une solution contenant de la 3,3',5, 5'-tétraméthylbenzidine (TMB) et de l'eau oxygénée est ajoutée aux cupules. Les cupules ayant fixé le conjugué développent une couleur bleue/verte qui vire à l'orange et peut être lue à 450 nm une fois que la réaction a été stoppée par de l'acide sulfurique. La quantité de conjugué, et donc l'intensité de la couleur dans les cupules est directement proportionnelle à la concentration en anticorps anti-VIH présents dans l'échantillon.

#### **I.3.1.3.4.3- Mode opératoire**

L'analyse des échantillons se fait suivant les étapes ci- dessous :

- Reconstituer et homogénéiser le conjugué, préparer la solution de substrat et le liquide de lavage.
- Utiliser uniquement le nombre de cupules nécessaires pour le test. Eviter de toucher les parties supérieures ou inférieures des cupules.
- Ajouter 25 µl de diluant d'échantillons dans chaque cupule.
- Ajouter 100 µl d'échantillons ou 100 µl des contrôles dans les cupules. Pour chaque plaque, utiliser la première colonne de cupules pour les contrôles du test. Ajouter les contrôles dans les cupules appropriées après avoir distribué les échantillons. Pipeter 100 µl de contrôle négatif dans chacune des 3 cupules A1 à C1 et 100 µl des contrôles positifs p24, anti-VIH1 et anti-VIH2 dans les cupules D1 à F1 respectivement. L'utilisation d'un fond blanc permettra de mieux visualiser l'addition de l'échantillon.

- Recouvrir les cupules avec le couvercle et incuber pendant 60 minutes à  $37^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ .
- A la fin du temps d'incubation, laver la plaque.
- Immédiatement après lavage de la plaque, ajouter 100  $\mu\text{l}$  de conjugué dans chaque cupule.
- Recouvrir les cupules avec le couvercle et incuber pendant 30 minutes à  $37^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ .
- A la fin du temps d'incubation, laver la plaque.
- Immédiatement après le lavage de la plaque, ajouter 100  $\mu\text{l}$  de solution de substrat dans chaque cupule.
- Recouvrir les cupules avec un couvercle et incuber pendant 30 minutes à  $37^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ . Tenir à l'abri de la lumière. Une couleur bleue/verte devrait apparaître dans les cupules contenant des échantillons réactifs.
- Ajouter 50  $\mu\text{l}$  de solution d'arrêt (acide sulfurique de 0,5 mol/l à 2 mol/l) dans chaque cupule.
- Lire la densité optique à 450 nm dans les 15 minutes, (faire au préalable une lecture à blanc c'est-à-dire sans plaque).

#### **I.3.1.3.4.3- Mode opératoire**

- **Calcul des résultats**

✓ Contrôle négatif

Calculer la densité optique moyenne des contrôles négatifs.

Exemple :

Cupule 1 = 0,084 ; cupule 2 = 0,086 ; cupule 3 = 0,070

Total = 0,240

Moyenne du contrôle négatif =  $0,240 / 3 = 0,080$

Si l'une des cupules contenant le contrôle négatif présente une densité optique supérieure à la moyenne des trois contrôles négatifs de plus de 0,15 D.O, rejeter la valeur et calculer une nouvelle moyenne du contrôle négatif à partir des deux valeurs restantes.

✓ Valeur seuil

Calculer la valeur seuil en ajoutant 0,150 à la moyenne des répliques du contrôle négatif (voir ci-dessus).

Moyenne du contrôle négatif = 0,080

Valeur seuil =  $0,080 + 0,150 = 0,230$

• **Interprétation des résultats**

✓ Validation des contrôles

Les résultats de la série de tests sont valables si les critères suivants sont remplis pour les contrôles :

- La DO moyenne du contrôle négatif doit être inférieur à 0,15
- La DO de chacun des contrôles positifs doit être supérieur à la DO moyenne du contrôle négatif de plus de 0,8.

✓ Résultats non réactifs

Les échantillons fournissant une DO inférieure à la valeur seuil sont considérés comme négatifs pour le test.

✓ Résultats réactifs

Les échantillons fournissant une DO supérieure ou égale à la valeur seuil sont considérés comme positifs pour le test.

### **I.3.1.3.5- Le test ELISA non commercial : ELISA peptidique dit ELISA « maison »**

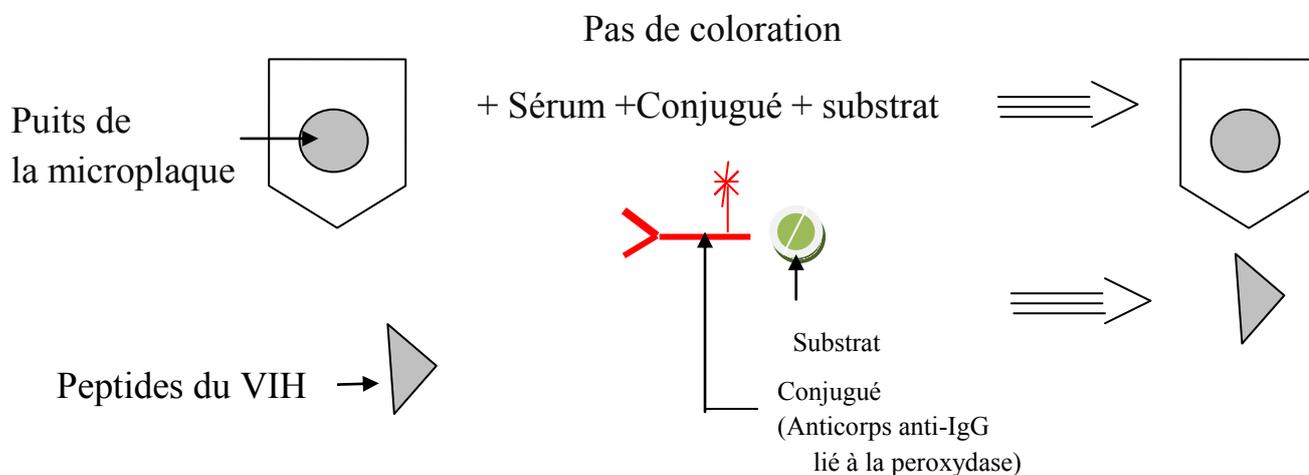
#### **I.3.1.3.5.1-Présentation**

Le test Elisa peptidique est un test non commercial, réalisé à partir de plaques ELISA de type Falcon dont les puits sont sensibilisés avec des peptides synthétiques du VIH1 (gp41) et du VIH2 (gp36) par le laboratoire d'utilisation. C'est un test discriminant immunoenzymatique de type indirect permettant la détection qualitative des anticorps anti-VIH1 et anti-VIH2.

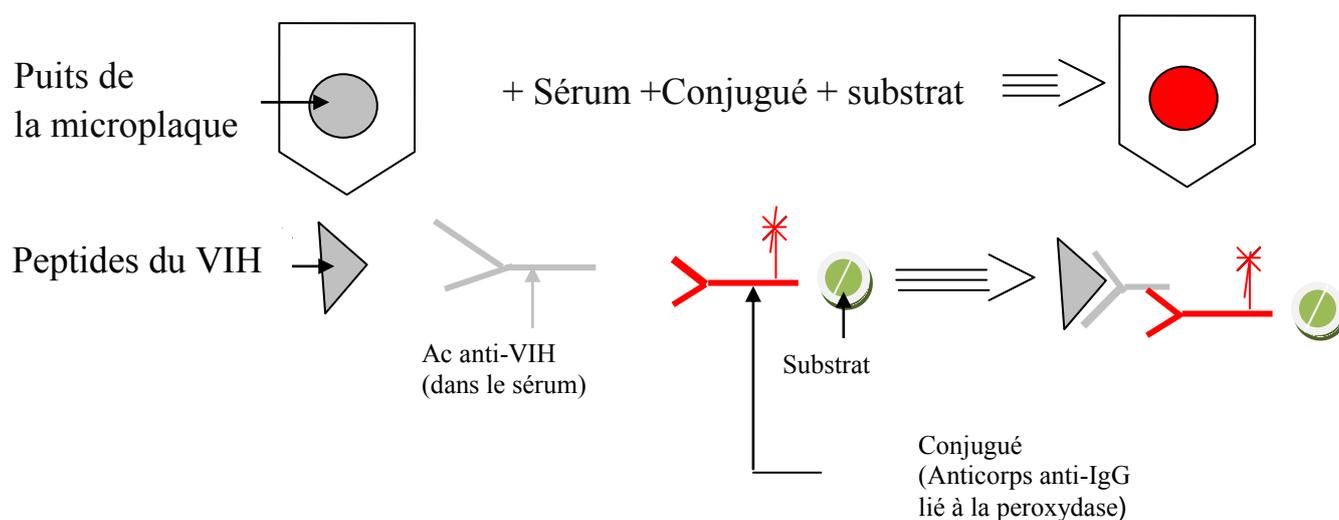
#### **I.3.1.3.5.2- Principe**

Les anticorps anti-VIH contenus dans l'échantillon se fixent spécifiquement aux antigènes du VIH préalablement fixés dans les puits. L'excès d'anticorps est éliminé par lavage. Le conjugué (peroxydase de Raifort) est ajouté et se fixe aux complexes anticorps-antigène dans les puits. L'excès de conjugué est éliminé par lavage. Le substrat (orthophénylène diamine d'hydrochloryde (OPD) + peroxyde d'urée) est ensuite additionné, pour donner une coloration jaune qui vire au marron après ajout de la solution d'arrêt (acide sulfurique).

- **Réaction négative**



- **Réaction positive**



**Figure 13** : Principe de la réaction de type ELISA indirect.

### **I.3.1.3.5.3- Mode opératoire**

#### **➤ Préparation des plaques**

##### **a. coating**

Cette étape consiste à fixer les peptides VIH1 (gp41) et VIH2 (gp36) dans les puits des plaques. Pour cela, 100µl de peptides dilués dans du Phosphate buffered saline (PBS) sont déposés dans les puits en respectant le plan des plaques (**Figure 14**). Après une incubation d'une nuit (overnight) à 37°C, les plaques sont lavées avec un tampon de lavage (PBS + Tween 20+ eau distillée).

##### **b. surcoating**

Le surcoating consiste à saturer la réaction à l'aide de 200µl de tampon de saturation (2 ml de SVNN dans PBS 1Xqs pour 100 ml). Après une deuxième série de lavage et séchage à 37°C pendant 15 min, les plaques sont prêtes à l'emploi ou peuvent être conservées à -20°C pendant un mois. Une plaque permet de réaliser le sérotypage de 43 échantillons.

HIV-1	HIV-2	HIV-1	HIV-2								
gp 41	gp 36	gp 41	gp 36								
<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>

A	T-	T-	S4	S4	S12	S12	S20	S20	S28	S28	S36	S36
B	T-	T-	S5	S5	S13	S13	S21	S21	S29	S29	S37	S37
C	T-	T-	S6	S6	S14	S14	S22	S22	S30	S30	S38	S38
D	<b>THIV1</b>	<b>THIV1</b>	S7	S7	S15	S15	S23	S23	S31	S31	S39	S39
E	<b>THIV2</b>	<b>THIV2</b>	S8	S8	S16	S16	S24	S24	S32	S32	S40	S40
F	S1	S1	S9	S9	S17	S17	S25	S25	S33	S33	S41	S41
G	S2	S2	S10	S10	S18	S18	S26	S26	S34	S34	S42	S42
H	S3	S3	S11	S11	S19	S19	S27	S27	S35	S35	S43	S43

- S = Sérum

- T = témoin

**Figure 14** : Plan de distribution de plaque pour ELISA peptidique.

- **SEROTYPAGE**

Le sérotypage des échantillons se fait selon la procédure suivante :

- Préparer extemporanément le tampon de dilution (25ml PBS 2X + 5ml SVNN + 25µl Tween 20 + eau distillée qsp 50ml → 40ml pour 40 échantillons et 10ml pour le conjugué)
- Diluer les échantillons et les témoins (témoin négatif ; témoin VIH1 ; témoin VIH2) au 1/100<sup>ème</sup> dans le tampon de dilution : 10µl d'échantillon/témoin pour 1ml de tampon de dilution. Pour les échantillons à retester, faire une dilution supplémentaire au 1/500<sup>ème</sup> : 100µl d'échantillons/témoin pour 400 µl de tampon de dilution.
- Distribuer 100 µl de chaque échantillon/témoin dilué dans les puits correspondants. Chaque échantillon est distribué à la fois dans un puits impair (pour VIH1) et un puits pair (VIH2).
- Incuber pendant 30 minutes à 18°C sans couvrir la plaque.
- Faire 5 cycles de lavages en distribuant 150µl de tampon de lavage (100 ml de PBS 10X + 5ml de Tween 20 + eau distillée qsp 1000 ml) par puits.
- Déposer 100 µl de conjugué (2 µl de peroxydase de Raifort pour 10ml de tampon de dilution, préparé 10 min avant la fin du 1<sup>er</sup> temps d'incubation) dans chaque puits.
- Incuber pendant 30 minutes à 18°C sans couvrir la plaque.
- Faire 5 cycles de lavages en distribuant 150µl de tampon de lavage par puits
- Déposer 100 µl de substrat préparé extemporanément dans chaque puits.
- Incuber pendant 15 minutes à 18°C à l'abri de la lumière.
- Arrêter la réaction avec la solution d'arrêt (acide sulfurique 2N) préalablement préparée.
- Faire la lecture des DO de la plaque au spectrophotomètre à 490/620 nm (faire au préalable une lecture à blanc c'est-à-dire sans plaque).

#### **I.3.1.3.5.4- Résultats et interprétation**

- **Validation des contrôles**

Les contrôles sont valides lorsqu'ils respectent les conditions suivantes :

- DO témoin négatif (T-) en A1, B1 et C1, inférieure à 0,5
- DO témoin positif (THIV1) en D1 supérieure à 2
- DO témoin positif (THIV2) en E2 supérieure à 2

- **Interprétation des résultats**

- Les échantillons donnant une DO inférieure à 1 sont considérés comme négatifs.
- Les échantillons donnant une DO supérieure à 2 sont considérés comme positifs.
- Les échantillons VIH1+2 au 1/100<sup>ème</sup> doivent être retestés au 1/500<sup>ème</sup>.
- les échantillons testés au 1/500<sup>ème</sup> sont considérés comme positifs si la DO est supérieure à 1.

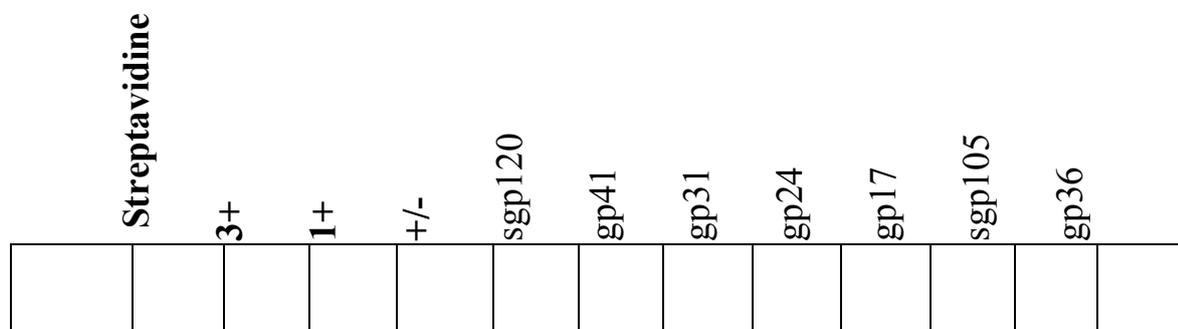
#### **I.3.1.3.6- INNO-LIA<sup>TM</sup> HIV I/II Score**

##### **I.3.1.3.6.1-Présentation du test**

C'est un test immuno-enzymatique sur bandelette ou Line Immuno Assay (LIA), pour confirmer la présence d'anticorps anti-VIH1 y compris le groupe O, et anti -VIH2 dans le sérum ou le plasma. Ce sont des bandelettes sur lesquelles sont fixées sous forme de fines bandes des protéines recombinantes et des peptides synthétiques du VIH1 (gp 120, gp41, p31, p24, p17), du VIH2 (gp36 et gp105) et un peptide synthétique du groupe O du VIH1.

Par ailleurs 4 bandes de contrôle sont disposées sur chaque bandelette : la ligne de la streptavidine et 3 lignes d'IgG humaine d'intensité variable ±, 1+ et 3+.

La **figure 15** présente une bandelette du test.



**Figure 15** : Bandelette du test INNOLIA<sup>™</sup> HIV I/II

#### **I.3.1.3.6.2- Principe du test**

L'échantillon est mis à incuber avec la bandelette. Les anticorps anti-VIH se lient aux bandes individuelles des antigènes du VIH sur la membrane. Ensuite, une anti-IgG humaine marquée à la phosphatase alcaline est ajoutée et se lie au complexe antigène/anticorps formé précédemment. L'incubation avec le 5-bromo 4chloro 3-indolyl phosphate / nitro blue tetrazolium (BCIP /NBT) utilisé comme substrat produit une couleur brun foncé proportionnelle à la quantité d'anticorps anti-VIH présents dans l'échantillon.

#### **I.3.1.3.6.1-Présentation du test**

L'analyse des échantillons se fait suivant les étapes ci-dessous :

- Identifier les auges de tests de contrôle et de spécimens et les placer dans le bac.
- Ajouter 1 ml de diluant dans chaque auge de test.
- Ajouter 20 ul de l'échantillon approprié ou de contrôle dans leurs auges étiquetées de façon appropriée.

- Retirer la quantité requise de bandes d'essai à partir de leur récipient, et ajouter une bande dans chacune des auges de test. Les bandelettes doivent être complètement immergées.
- Couvrir les bacs avec un scellant adhésif. Incuber les échantillons pendant 3 heures en plaçant le plateau sur un agitateur.
- Laver chaque bandelette 3 fois pendant 6 minutes avec 1 ml de solution de lavage.
- Ajouter 1 ml de solution de conjugué dans chaque compartiment de test.
- Incuber avec le conjugué sous agitation lente pendant 30 minutes à température ambiante.
- Laver chaque bandelette 3 fois pendant 3 minutes avec 1 ml de solution de lavage
- Ajouter 1 ml de solution de substrat dans chaque auge de test.
- Incuber avec le substrat sous agitation lente pendant 30 minutes à température ambiante
- Aspirer le liquide, ajouter 1 ml de solution d'arrêt dans chaque compartiment de test.
- Incuber avec la solution d'arrêt sous agitation lente pendant 10-30 minutes à température ambiante.
- Aspirer la solution d'arrêt.
- Retirer les bandes des auges de test et les placer, sur du papier absorbant à l'aide des pincettes.

#### **I.3.1.3.6.4-Résultats**

L'intensité de la réaction des lignes de contrôle sur chaque bandelette est utilisée pour assigner la réactivité (notes) pour chaque antigène sur cette bandelette (**tableau III**).

**Tableau III:** Cotation des lignes de réactions antigène-anticorps

<b>Intensité de la ligne de réaction</b>	<b>Note</b>
Inférieure à ±	-
Égale à ±	±
Supérieure à ±, mais inférieure ou égale à 1 +	<b>1+</b>
Supérieure à 1 +, mais inférieure à 3 +	<b>2+</b>
Égale à 3 +	<b>3+</b>
Supérieure à 3 +	<b>4+</b>

- **Validation de la bandelette de contrôle**

-la bandelette du contrôle positif doit présenter une note d'au moins 1+ sur sgp120, gp31, gp41, gp24 et gp36. Les bandes de p17 et sgp105 peuvent montrer une note négative.

-la bandelette du contrôle négatif doit présenter une note négative pour toutes les bandes.

- **Validation d'une bandelette.**

Les bandes de contrôle ±, 1+ et 3+ doivent être visibles sur toutes les bandelettes avec une intensité croissante. La ligne de la streptavidine doit avoir une note négative.

➤ Interprétation

Un échantillon est négatif si :

- Toutes les bandes ont une note inférieure à  $\pm$  ou si au maximum une bande est cotée à  $\pm$

Un échantillon est dit indéterminé si

- Deux ou plusieurs bandes ont une note égale à  $\pm$
- Une bande a une intensité supérieure ou égale à 1+ et les autres – ou  $\pm$
- Deux ou plusieurs bandes ont une intensité supérieure à  $\pm$  mais les conditions de positivité énoncées ci-dessous ne sont pas respectées.

Un échantillon est positif si

- Deux bandes ont une note supérieure ou égale à 1+ : deux lignes d'enveloppe du même type de VIH ou une bande d'enveloppe combinée à la bande de l'antigène p24.
- Au moins trois bandes ont une note supérieure à 1+ : l'une doit être un antigène d'enveloppe.

Discrimination

- Echantillon positif pour les anticorps du VIH1

Un antigène du VIH1 (gp 120 ou gp 41) ou les deux sont positifs (note supérieure à 1+) et une note d'au plus  $\pm$  est autorisée sur les bandes (gp105 et gp36).

- Echantillon positif pour les anticorps du VIH2

Un antigène (gp105 ou gp36) ou les deux sont positifs (note supérieure à 1+) et une note d'au plus  $\pm$  est autorisée sur les bandes (gp 120 et gp 41).

### I.3.2- ANALYSE STATISTIQUE

Les données de l'évaluation ont été recueillies sur une fiche avant transcription dans une base de données Excel.

Pour l'algorithme évalué, différents critères de performance ont été calculés en comparaison avec les résultats de l'algorithme de référence.

#### I.3.2.1- Analyse des performances de dépistage de l'algorithme évalué

Les performances de dépistage de l'algorithme évalué ont été calculées en comparaison avec les résultats de l'algorithme de référence à partir du tableau de contingence (**Tableau IV**).

Ces performances de dépistage sont les suivantes :

- La sensibilité (**Se**) est la capacité du test évalué à détecter correctement les échantillons contenant des anticorps anti-VIH.
- La spécificité (**Sp**) est la capacité du test évalué à détecter correctement les échantillons ne contenant pas des anticorps anti-VIH.
- Le pourcentage de discordants (**P**) est la proportion des faux positifs et des faux négatifs parmi l'ensemble des sujets.

**Tableau IV** : Calcul des performances de dépistage

		Algorithme de référence		
		Positif	Négatif	TOTAL
Algorithme évalué	Positif	Vrai positif <b>A</b>	Faux positif <b>B</b>	<b>A + B</b>
	Négatif	Faux négatif <b>C</b>	Vrai négatif <b>D</b>	<b>C + D</b>
	TOTAL	<b>A + C</b>	<b>B + D</b>	<b>A + B + C + D</b>

▪ **La sensibilité**

$$Se = \frac{A}{A + C} \times 100$$

▪ **La spécificité**

$$Sp = \frac{D}{B + D} \times 100$$

▪ **Pourcentage de discordants**

$$P = \frac{B + C}{A + B + C + D} \times 100$$

**I.3.2.2-Analyse du pouvoir discriminant**

Les performances de sérotypage de l'algorithme évalué ont été déterminées à partir du calcul du coefficient de concordance Kappa (**tableau V**) et du taux de concordance (TC).

**Tableau V : Calcul du coefficient KAPPA (32).**

		Algorithme de référence			
		1	2	1+2	Total
Algorithme évalué	Type de VIH				
	1	<b>n 1 1</b>	n 1 2	n 1 3	L 1
	2	n 2 1	<b>n 2 2</b>	n 2 3	L 2
	1+2	n 3 1	n 3 2	<b>n 3 3</b>	L 3
	Total	C1	C2	C3	N

$$P_o = (n_{11} + n_{22} + n_{33}) / N$$

$$P_a = [ ( C_1 \times L_1 / N ) + ( C_2 \times L_2 / N ) + ( C_3 \times L_3 / N ) ] / N$$

$$\text{Coefficient Kappa (K)} = P_o - P_a / 1 - P_a$$

Le coefficient Kappa varie de -1 (désaccord absolu) à +1 (accord parfait). La valeur 0 correspond à un degré d'accord nul du fait de l'indépendance entre les mesures (32).

**Landis et Koch**, ont proposé un classement de l'accord entre les mesures en fonction de la valeur de Kappa présentée dans le **tableau VI (33)**.

**Tableau VI : Valeurs de KAPPA et degré d'accord attendu (32).**

<b>Valeur de K</b>	<b>Accord</b>
< 0,20	Insuffisant
0,21 – 0,40	Faible
0,41 – 0,60	Modéré
0,61 – 0,80	Bon
0,81 – 1,00	Très bon

---

Le calcul du taux de concordance en fonction du sérotype se fait selon la formule ci-dessous :

$TC\ VIH-n = [\text{nombre VIH-n de l'algorithme évalué} / \text{nombre VIH-n de l'algorithme de référence}] \times 100$  avec  $n=1, 2, 1 \text{ et } 2$ .

### **I.3.2.3- Caractéristiques opérationnelles de l'algorithme évalué**

D'autres paramètres liés aux caractéristiques générales et opérationnelles ont été évalués : variabilité de lecture, appréciation technique, praticabilité.

#### **I.3.2.3.1- La variabilité de lecture entre 15 et 30mn**

Dans le cadre de notre étude nous avons procédé, à deux lectures par différents opérateurs, pour chaque échantillon testé par le Genie III<sup>®</sup>. Une lecture à 15 minutes et une autre à 30 minutes.

La fiche de résultat a été utilisée pour rapporter les informations de variabilité de lecture par-rapport au temps.

L'ensemble des performances techniques et opérationnelles ont permis d'apprécier la facilité d'utilisation et les performances de l'algorithme dans les laboratoires périphériques.

## II- RESULTATS

Au total, notre étude a porté sur 377 échantillons.

L'âge moyen des patients était de 41 ans et le sexe ratio était de 0,54.

L'origine des échantillons et leurs sérotypes établis avec l'algorithme en vigueur sur les différents sites évaluateurs, sont présentés dans le **tableau VII**.

**TABLEAU VII : Origine des échantillons utilisés**

	<b>NEGATIF</b>	<b>VIH-1</b>	<b>VIH-2</b>	<b>VIH-1+2</b>	<b>TOTAL</b>
CEPREF		54	73	38	<b>165</b>
CNTS		40	54	39	<b>133</b>
IPCI	49	20	8	2	<b>79</b>
<b>TOTAL</b>	<b>49</b>	<b>114</b>	<b>135</b>	<b>79</b>	<b>377</b>
<b>POURCENTAGE(%)</b>	<b>13</b>	<b>30,2</b>	<b>35,8</b>	<b>21</b>	<b>100</b>

---

## II.1-EVALUATION DES PERFORMANCES DE DEPISTAGE DE L'ALGORITHME EVALUE

Les performances de dépistage de l'algorithme évalué sont présentées par le **tableau VIII**.

**Tableau VIII** : Performances de dépistage de l'algorithme évalué

		Algorithme de référence		
		POSITIF	NEGATIF	TOTAL
Algorithme évalué	POSITIF	328	0	328
	NEGATIF	0	49	49
	TOTAL	328	49	377

---

Sensibilité (Se) :  $(328 / 328) \times 100 = 100 \%$

Spécificité (Sp) :  $(49 / 49) \times 100 = 100 \%$

Aucune Discordance n'a été observée.

## II.2- EVALUATION DU POUVOIR DISCRIMINANT DE L'ALGORITHME EVALUE ET DE L'ALGORITHME EN VIGUEUR

Les performances de sérotypage de l'algorithme évalué et de l'algorithme en vigueur sont respectivement présentées dans les **Tableaux IX et X**.

**Tableau IX :** Performances de sérotypage de l'algorithme évalué

	Type de VIH	Algorithme de référence			
		VIH-1	VIH-2	VIH-1+2	Total
Algorithme évalué	VIH-1	148	0	0	148
	VIH2	0	116	1	117
	VIH-1+2	11	9	43	63
	<b>Total</b>	159	125	44	<b>328</b>

Le coefficient kappa de l'algorithme évalué était de 0.89.

Pour chaque sérotype la concordance était de :

VIH1 :  $(148/159) = 93,1 \%$

VIH2 :  $(116/125) = 92,8 \%$

VIH1 et 2 :  $(43/44) = 97,7 \%$ .

Taux de concordance global : 94,5%

**Tableau X : Performances de sérotypage de l'algorithme en vigueur**

	Type de VIH	Algorithme de référence			
		VIH-1	VIH-2	VIH-1+2	Total
Algorithme en vigueur	VIH-1	113	0	1	114
	VIH-2	8	115	12	135
	VIH-1+2	38	10	31	79
	<b>Total</b>	159	125	44	<b>328</b>

Le coefficient kappa de l'algorithme en vigueur était de 0.67.

Pour chaque sérotype la concordance était de :

VIH1 : 71,1 %

VIH2 : 92,0 %

VIH1 et 2 : 70,4 %.

Taux de concordance global : 77,8 %.

La comparaison des performances de sérotypage de l'algorithme évalué et de l'algorithme en vigueur est présentée par le **Tableau XI**.

**Tableau XI** : Comparaison des performances de sérotypage de l'algorithme évalué et de l'algorithme en vigueur.

		<b>Algorithme en vigueur</b>	<b>Algorithme évalué</b>	<b>p</b>
	<b>VIH1</b>	71,1	93,1	$<10^{-5}$
<b>Taux de Concordance</b>	<b>VIH2</b>	92,0	92,8	0,67
	<b>VIH1+2</b>	70,4	97,7	$<10^{-5}$
	<b>Global</b>	77,8	94,5	$<10^{-5}$

Nous avons observé une différence de performance de sérotypage entre l'algorithme évalué et l'algorithme en vigueur.

### **II.3-CARACTERISTIQUES OPERATIONNELLES DE L'ALGORITHME EVALUE**

Les techniciens de laboratoire des sites évaluateurs ont indiqué au cours de notre étude, la praticabilité très simple des tests constituant l'algorithme évalué.

Ces tests se réalisent en très peu d'étape (deux étapes au maximum) et ne nécessitent pas la préparation préalable d'antigène, de substrat, de solution de lavage et de conjugué.

Leur conservation se fait à la température ambiante :

- 2 à 30°C pour les tests Determine<sup>®</sup> et Génie III<sup>®</sup> ;

- 8 à 30°C pour le test Stat-Pak<sup>®</sup>.

Cependant, pour le test GenieIII<sup>®</sup>, il a été noté l'apparition pour certains échantillons, de fines bandes pas facilement détectables au niveau de la zone test. De plus, l'absence d'indication pour l'ouverture des sachets individuels du test rend difficile l'ouverture de l'emballage plastique et donc l'accès à la cassette du test.

Les différences de lecture du Genie III<sup>®</sup> entre 15mn et 30mn sont présentées dans le **tableau XII**.

**Tableau XII** : Variabilité de lecture du Genie III<sup>®</sup> entre 15 et 30 mn.

		Deuxième lecture à 30 mn				
		Négatif	VIH-1	VIH-2	VIH-1+2	Total
<b>Première lecture à 15 mn</b>	<b>Négatif</b>	49	0	0	0	49
	<b>VIH-1</b>	0	113	0	1	114
	<b>VIH-2</b>	0	0	131	4	135
	<b>VIH-1+2</b>	0	0	0	79	79
	<b>Total</b>	49	113	131	84	377

Au total 5 échantillons ont donné des résultats différents entre la première lecture à 15 mn et la seconde à 30mn, conduisant à une variabilité de lecture de 1,32 % (5/377). Pour ces 5 échantillons les résultats obtenus lors de la première lecture à 15 mn, étaient concordants avec les résultats de l'algorithme de référence.

### III-DISCUSSION

Le dépistage de l'infection à VIH constitue un maillon important dans la prise en charge des personnes infectées.

En effet du fait de l'existence de différents sérotypes du VIH (VIH 1 et VIH 2), une bonne prise en charge thérapeutique du VIH/Sida nécessite un dépistage incluant l'identification du sérotype en cause.

Il est donc utile de disposer d'un algorithme de dépistage du VIH possédant de très bonnes caractéristiques à la fois techniques et opérationnelles, afin de garantir un diagnostic fiable et précis et partant une prise en charge adaptée et efficace.

Nous avons dans notre étude décrit les performances de dépistage, analysé le pouvoir discriminant et défini les caractéristiques opérationnelles de l'algorithme de dépistage du VIH (i) Determine<sup>®</sup> + Stat Pak<sup>®</sup> au poste de dépistage ; (ii) Determine<sup>®</sup> + Genie III HIV-1/HIV-2<sup>®</sup> +/- Stat Pak<sup>®</sup> au laboratoire.

#### **Performances de dépistage de l'algorithme évalué**

L'algorithme évalué a présenté une Sensibilité et une Spécificité de 100% très satisfaisantes et répondant aux directives de l'OMS (sensibilité supérieure à 98% et spécificité supérieure à 95%).

GALIWANGO R M et collaborateurs ont obtenu une Sensibilité de 97.3% et une Spécificité de 99.7% en Ouganda, lors de l'évaluation d'un algorithme composé des tests Determine<sup>®</sup>, Stat-Pak<sup>®</sup> et Uni-Gold<sup>®</sup> (29). Ces performances de dépistage sont inférieures à celles de l'algorithme évalué.

### **Performances de sérotypage de l'algorithme évalué**

L'algorithme évalué a fourni une concordance globale égale à 94,5%, supérieure à la concordance globale de l'algorithme en vigueur qui était de 77,84 %.

Nous avons observé avec l'algorithme évalué, 17% d'échantillons VIH-1+2 qui ont donné un résultat VIH-1, et 14% un résultat VIH-2 avec l'algorithme de référence. Cette tendance à donner plus de VIH1+2 pourrait s'expliquer par l'existence des réactions croisées entre les protéines internes du VIH (p24 du VIH1 et p26 du VIH2) du fait d'épitopes communs entre ces protéines **(10)**.

Cette tendance à donner les VIH 1+2 a des conséquences :

- Au plan épidémiologique : d'engendrer des données non fiables lors des enquêtes épidémiologiques.
- Au plan thérapeutique :  
Pour les patients VIH2 cela ne pose pas de problème majeur dans la mesure où le protocole ARV des patients VIH2 et VIH1+2 est semblable. Cependant pour les patients VIH1, cela pourrait conduire à une prise en charge thérapeutique inadaptée car il existe une différence de protocole ARV entre les patients VIH1 et VIH-1+2.

### **Caractéristiques opérationnelles de l'algorithme évalué**

L'algorithme évalué, offre des caractéristiques opérationnelles compatibles avec un passage à échelle nationale des activités de dépistage. En effet, les tests constituant l'algorithme se réalisent en très peu d'étape : deux étapes au maximum (dépôt échantillon et dépôt de tampon). La lecture des résultats se fait en moins de 30 minutes et les tests peuvent être conservés à la température ambiante contrairement au test Immunocomb II HIV 1&2 Bispot<sup>®</sup> qui se conserve entre 4 et 8°C.

Cependant pour le test Genie III<sup>®</sup>, la délicatesse de la lecture liée à l'apparition de bandes d'intensité faible dans certains cas, requièrent que ce test soit utilisé par du personnel de laboratoire.

Pour la lecture des résultats du Genie III<sup>®</sup>, le fabricant indique de considérer positif toute bande apparaissant dans la zone test dans un délai de 15 minutes.

Il n'y a aucune comparaison à faire pour l'intensité des bandes comme on peut le constater pour d'autres tests discriminants comme le SD Bioline HIV 1/2 3.0<sup>®</sup> et Immunocomb II HIV 1&2 Bispot<sup>®</sup>. Cependant il est important de respecter strictement le délai de lecture pour éviter des erreurs de lecture du fait de l'apparition possible de bandes non spécifiques au-delà de 30 minutes.

# CONCLUSION

Notre étude avait pour objectif l'évaluation des performances de dépistage, du pouvoir discriminant et des caractéristiques opérationnelles de l'algorithme de dépistage de l'infection à VIH (i) Determine<sup>®</sup>+ Stat Pak<sup>®</sup> au poste de dépistage ; (ii) Determine<sup>®</sup>+ Genie III HIV-1/HIV-2<sup>®</sup> +/- Stat Pak<sup>®</sup> au laboratoire.

Nous pouvons conclure au terme de notre étude :

- L'algorithme évalué possède une bonne performance de dépistage car présentant une sensibilité et une spécificité très satisfaisante, répondant aux recommandations requises par l'OMS.
- L'algorithme évalué présente un très bon pouvoir discriminant mais a une tendance à donner des résultats VIH 1+2 pour des échantillons VIH1 ou VIH 2.
- Les tests composant l'algorithme sont très simples d'utilisation, ce qui constitue un avantage car permet leur utilisation par du personnel non professionnels de laboratoire, de plus ils se conservent à la température ambiante donc facile à conserver.
- L'algorithme évalué peut donc être utilisé pour le dépistage de l'infection à VIH en Côte d'Ivoire.

# RECOMMANDATIONS

Au terme de cette évaluation de phase II, nous pouvons faire les recommandations suivantes :

➤ **Au programme national de prise en charge des PVVIH**

- L'algorithme à adopter pour le dépistage de l'infection à VIH devrait être
  - Determine<sup>®</sup> + Stat Pak<sup>®</sup> sur sang total au poste de dépistage
  - Determine<sup>®</sup> + Genie III<sup>®</sup> ± Stat Pak<sup>®</sup> sur sérum/plasma au laboratoire lors du bilan initial, pour toutes les personnes dépistées positives à l'infection à VIH aux postes de dépistage.
- Un protocole d'utilisation du Genie III<sup>®</sup> doit être élaboré (avec des schémas) à l'attention du personnel de laboratoire pour s'assurer de l'utilisation de ce test dans des conditions optimales (respect du délai de lecture).
- Une étude doit être conduite pour bien documenter les faux dual (VIH-1+2) obtenus avec le Genie III<sup>®</sup>.

➤ **Au fabricant du test Genie III<sup>®</sup>**

Améliorer l'intensité des bandes de lecture afin de faciliter l'interprétation des résultats.

# REFERENCES

1. **ADIKO E S.** Evaluation du test GENIE III<sup>®</sup> HIV 1 / HIV 2 de BIO-RAD pour le dépistage de l'infection à VIH en Côte d'Ivoire. 87p  
Th. Pharm: Abidjan, 2013. 1531
2. **AMADOU A, KOUKA N, ELHADJ MAHAMANE A.** Évaluation de cinq tests rapides et de deux algorithmes pour le diagnostic de l'infection par le VIH au Niger. *Virologie*. 2004 ; 2687 : 5p.
3. **ARIANE METIEGAM.** Connaissances, attitudes pratiques comportementales liées aux IST et au VIH/SIDA des étudiants.  
Th. Med : Bamako, 2009. 85p
4. **BARIN F, M'BOUP S, DENIS F et al.** Serological evidence for virus related to Simian T-lymphotropic retrovirus III in residents of West Africa. *Lancet*. 1985 ; 2 : 1387-1389.
5. **BARRE-SINOUSSE F, CHERMANN JC, REY F et al.** 1983. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS), *Science*. 1983 ; 220 (4599) : 868-871.
6. **BARRE-SINOUSSE F.** Les virus : rappel virologique : Guide du SIDA. Les dossiers du praticien. Paris : Groupe Impact Médecin, 2001. P 17-26.
7. **BARRE-SINOUSSE F.** Virologie fondamentale de l'infection à VIH.  
Paris: Doin, 2004. P 7-8; P 51.
8. **BARRE-SINOUSSE F.** Une découverte importante et l'espoir de guérir le VIH/sida. *Bulletin de l'OMS*. (Consulté le 10-01-2013).  
<http://www.who.int/bulletin/volumes/87/1/09-040109/fr/index.html> >
9. **BISSAGNENE E, DARIOSECQ JM, INWOLEY A et al.** Mémento thérapeutique du VIH/Sida en Afrique. Paris. Ed Doin: 2009. 326p

**10. BROU E C.** Evaluation du test ImmunoFlow HIV1-HIV2<sup>®</sup> de CORE DIAGNOSTICS pour le dépistage de l'infection à VIH en Côte d'Ivoire. 114p  
Th. Pharm: Abidjan, 2013. 1503

**11. BRUN-VEZINET F, DAMOND F, SIMON F.** Variabilité des virus de l'immunodéficience humaine de type 1. In : Journée SPE.13 oct 1999. Institut Pasteur Paris, Génétique et maladies infectieuses dans l'environnement tropical. Paris : Institut pasteur,1999. p1-p3

**12. CAMERON DW, SIMONSEN JN, D'COSTA LJ et al.** Female to male transmission of human immunodeficiency virus type 1: risk factors for séroconversion in men.  
Lancet. 1989 ; 2: 403-407.

**13. CARCELAIN B., AUTRAN B.** Mécanismes immuno-pathologiques de l'infection à VIH. Paris: Ed Doin, 1998. P21-34.

**14. CDC. Atlanta.** 1981. Pneumocystis pneumonia. Los Angeles Morbidity and Mortality Weekly Report. 1981 ; 30 : 250-252.

**15. CDC. Atlanta.** Revised Classification System for HIV Infection and Expanded Surveillance: Case Definition for AIDS Among Adolescents and Adults.1993. (Consulté le 07-05-2013).

<http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00018871.htm>

**16. CDC. Atlanta, OMS. Genève.** Directives pour l'évaluation appropriée des techniques de dépistage du VIH en Afrique.  
Atlanta: CDC, 2001. p72

**17. CHOUIKHA A.** Infection à VIH : Aspects virologiques et histoire naturelle. (Consulté le 10-05-2013).

[http://www.infectiologie.org.tn/pdf/fmc/fmc6/infection\\_vih.pdf](http://www.infectiologie.org.tn/pdf/fmc/fmc6/infection_vih.pdf)

- 18. CONNOR EM, SPERLING RS GELBER R et al.** Reduction of maternal-infant transmission of human Immuno deficiency virus type 1 with Zidovudine treatment. *N Engl J Med.* 1994 ; 331:1175-1180.
- 19. CONSEIL NATIONAL DE LUTTE CONTRE LE SIDA. Abidjan.** Suivi de la déclaration de politique sur le Sida de juin 2011 : Rapport national 2012. Abidjan: CNLS, 2012. 43p
- 20. CÔTE D'IVOIRE. MINISTERE DE LA SANTE ET DE L'HYGIENE PUBLIQUE.** Directives de dépistage du VIH dans les structures sanitaires. Abidjan : MSHP, 2009.
- 21. CÔTE D'IVOIRE. MINISTERE DE LA SANTE ET DE L'HYGIENE PUBLIQUE, PNPEC.** Rapport de supervision des prestataires des sites de la phase pilote élargi du nouvel algorithme de dépistage du VIH par les tests rapides par piqûre au bout du doigt. Abidjan : MSHP, 2009.
- 22. CÔTE D'IVOIRE. MINISTERE DE LA SANTE ET DE L'HYGIENE PUBLIQUE.** Rapport annuel des Indicateurs VIH du secteur Santé en Côte d'Ivoire 2009. Abidjan : MSHP, 2010.53p
- 23. CÔTE D'IVOIRE. MINISTERE DE LA SANTE ET DE L'HYGIENE PUBLIQUE, LNSP. Abidjan, PNPEC. Abidjan.** Rapport d'évaluation de tests rapides discriminants en vue de l'adoption d'un algorithme de dépistage du VIH en Côte d'Ivoire. Abidjan : MSHP, 2011.
- 24. CÔTE D'IVOIRE. MINISTERE DE LA SANTE ET DE LA LUTTE CONTRE LE SIDA.** Enquête Démographique et de Santé (EDSCI-III) 2011-2012, Rapport préliminaire sur la prévalence du VIH.

Abidjan : MSLS, 2013.13p

**25.DIAMOUTÉNÉ A.** Evaluation de l'observance du traitement antirétroviral au centre hospitalier universitaire du point G.134p.

Th. Pharm ; Bamako, 2006.

**26.ELIGIUS F L, SAID ABOUD, WILLY K U et al.** Evaluation of simple rapid HIV assays and development of national rapid HIV test algorithms in Dar es Salaam, Tanzania. BMC Infect Dis. 2009 ; 9:19.

**27.EMINI EA, KOFF WC.** Developing an AIDS vaccine: Need, uncertainty, hope. Science. 2004; 304:1913-1914.

**28.FAUCI A S, DESROSIERS R C.** Pathogenesis of HIV and SIV. Retroviruses. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1997. P 587-636.

**29.GALIWANGO R M, RICHARD M, LAWRENCE L et al.** Evaluation of current rapid HIV test algorithm in Rakai, Uganda. J Virol Methods. 2013 Sept ; 192 (1-2) :25-7.

**30.HAIDARA ALPHA.** Étude de la résistance des sous-types non-B du VIH-1 aux antirétroviraux au Mali.243p.

Th. Méd : Montreal, 2012.

**31.HEILBRON J, GOUDSMI-T.J.** A propos de la découverte du virus du sida. Actes de la Recherche en Sciences Sociales. Sept 1987 ; 69: 98-104.

**32.JAFFAR S, GRANT A D, WHITWORTH J et al.** The natural history of HIV-1 and HIV-2 infections in adults in Africa: a literature review. Bull Who. 2004, 82: 462-469.

- 33. LANDIS J R, KOCH G G.** The Measurement of Observer Agreement for Categorical Data, *Biometrics*, 1977a, **33**, 159-174.
- 34. LAPERCHE S, MANIEZ M, COUROUCE A.** Les tests de dépistage combinés de l'antigène p24 et des anticorps anti VIH dans l'infection précoce à VIH 1. *Transfus. Clin. Biol.* 2000 7(1):18-24
- 35. LOUSSERT-AJAKA I, LY TD, CHAIX ML et al.** HIV-1/HIV-2 seronegativity in HIV-1 subtype O infected patients. *Lancet.* 1994 ; 343: 1393-1394.
- 36. LUCIW P IN, FIELDS BN, KNIPE D et al.** Human immunodeficiency viruses and their replication. Philadelphia, New York: Lippincott-Raven Publishers, 1996. 1881–1952.
- 37. MYERS G, B. KORBER, B. H HAHN et al.** Human retroviruses and AIDS 1995: a compilation and analysis of nucleic acid and amino acid sequences. Los Alamos: Los Alamos National Laboratory, 1995.
- 38. NKENGASONG J N, PEETERS.M, VANDEN M et al.** Antigenic evidence of the presence of the aberrant HIV-1ant70 virus in Cameroon and Gabon. *Aids* 1993 ; 7: 1536-1538.
- 39. NKENGASONG J N, C. MAURICE, S KOBLAVI et al.** Field evaluation of a combination of monospecific enzyme-linked immunosorbent assays for type-specific diagnosis of human immunodeficiency virus type 1 (HIV 1) and type 2 (HIV-2) infections in HIV- seropositive persons in Abidjan. Ivory Coast. *J Clin Microbiol.* 1998; 36: 123-127.

- 40.OKOME N., OKOME R.E., OBIANG N. et al.** Bilan clinico biologiques des patients infectés par le VIH. Libreville : Fondation Jeanne Ebori , 2005. P 357-361.
- 41. ONUSIDA. Genève.** Rapport ONUSIDA sur l'épidémie mondiale du Sida 2012. Genève : ONUSIDA, 2012. 212p
- 42.ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTE. Genève.** Traitement antirétroviral de l'infection à VIH chez l'adulte et l'adolescent en situation de ressources limitées : vers un accès universel : recommandations pour une approche de santé publique–Version2006. (Consulté le 12-12-2012)  
[http://www.who.int/hiv/pub/guidelines/artadultguidelines\\_fr.pdf](http://www.who.int/hiv/pub/guidelines/artadultguidelines_fr.pdf)
- 43.PLANTIER J-C, LEOZ M, DICKERSON J E et al.** A new human immunodeficiency virus derived from gorillas. Nature Medicine.2009,15: 871 - 872.
- 44.PRADA N, MARKOWITZ M.** Novel integrase inhibitors for HIV. Expert Opin Investig Drugs. 2010 ; 19: 1087-1098.
- 45.ROUET F, EKOUEVI DK, INWOLEY A et al.** Field evaluation of a rapid human immunodeficiency virus (HIV) serial serologic testing algorithm for diagnosis and differentiation of HIV type 1 (HIV-1), HIV-2, and dual HIV-1-HIV-2 infections in West African pregnant women. J Clin Microbiol. 2004 ; 42: 4147-4153.
- 46.ROQUEBERT B, DAMOND F, BRUN-VEZINET F et al.** Diversité génétique des VIH et ses conséquences. Pathologie Biologie. 2009 ; 57:142-148.
- 47.SANGARE Daouda Bakary.** Identification d'un algorithme de dépistage du VIH par des tests rapides utilisables dans les centres de conseils et de

dépistage volontaire (CCDV) au mali. Th. Pharm ; Banako, 2003.

**48.SEGONDY M.** Virus: Diversité génétique et variation antigénique, Conséquences épidémiologiques et thérapeutiques.

Montpellier : Faculté Médecine. 16p

**49.SCHNEIDER V.** Quantification génomique : Application aux infections par le VIH. Revue Française des Laboratoires. 2003 ; (351): 33.

**50.SCHWANDT M, MORRIS C, FERGUSON A et al.** Anal and dry sex in commercial sex work, and relation to risk for sexually transmitted infections and HIV in Meru, Kenya. Sex Transm Infect. 2006 ; 82:392-396.

**51.SEELAMGARI A, MADDUKURI A, BERRO R et al.** Role of viral regulatory and accessory proteins in HIV-1 replication. Front Biosci. 2004 ; 9: 2388-2413.

**52.SIMON F, LOUSSERT-AJAKA I, DAMOND F, et al.** HIV type diversity in northern Paris, France. Aids Res Hum Retrovirus. 1996 ; 12:1427-1433.

**53.WAIN-HOBSON S, SONIGO P, DANOS O et al.** Nucleotide sequence of the AIDS virus, LAV. Cell. 1985; 40: 9-17.

**54.WEBER B., GURTNER L., THORSTENSSON R. et al.** Multicenter evaluation of a new automated fourth generation human immunodeficiency virus screening assay with a sensitive antigen detection module and high specificity. J Clin Microbiol. 2002; 40 (6):1938-1946.

# ANNEXES

## Annexe 1 : Catégories cliniques selon les classifications CDC de 1993

<p><b>Catégorie A</b></p>	<p><b>Un ou plusieurs des critères listés ci-dessous chez un adolescent ou un adulte infecté par le VIH, s'il n'existe aucune des catégories B et C</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Infection à VIH asymptomatique</li> <li>➤ Lymphadénopathie généralisée persistante</li> <li>➤ Primo-infection symptomatique.</li> </ul>
<p><b>Catégorie B</b></p>	<p><b>Manifestations cliniques chez un adolescent ou un adulte infecté par le VIH ne faisant pas partie de la catégorie C et qui répond au moins à l'une des conditions suivantes :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Angiomatose bacillaire</li> <li>• Candidose oro-pharyngée</li> <li>• Candidose vaginale, persistante, fréquente ou qui répond mal au traitement</li> <li>• Dysplasie du col (modérée ou grave) carcinome in situ</li> <li>• Syndrome constitutionnel : fièvre (<math>\geq 38,5^\circ</math>) ou diarrhée supérieure à 1mois</li> <li>• Leucoplasie chevelue de la langue</li> <li>• Zona récurrent ou envahissant plus d'un dermatome</li> <li>• Salpingite, en particulier lors de complications par des abcès tubo-ovariens</li> <li>• Purpura thrombocytopénique idiopathique</li> <li>• Listériose</li> <li>• Neuropathie périphérique.</li> </ul>

<b>Catégorie C</b>	<p><b>Cette catégorie correspond à la définition du SIDA chez l'adulte. Lorsqu'un sujet a présenté une des pathologies de cette liste, il est classé définitivement dans la catégorie C:</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Candidose bronchique, trachéale, œsophagienne, pulmonaire, ou extrapulmonaire</li><li>• Cancer invasif du col</li><li>• Cryptococcose extrapulmonaire</li><li>• Coccidioidomycose disséminée ou extrapulmonaire</li><li>• Cryptosporidiose intestinale supérieure à 1 mois</li><li>• Infection à CMV (autre que foie, rate, ou ganglions)</li><li>• Rétinite à CMV (avec altération de la vision)</li><li>• Encéphalopathie due au VIH</li><li>• Infection herpétique, ulcères chronique supérieure à 1mois, ou bronchique, pulmonaire, ou œsophagienne</li><li>• Histoplasmosse disséminée ou extrapulmonaire,</li><li>• Isosporose intestinale chronique (supérieure à 1mois)</li><li>• Sarcome de Kaposi</li><li>• Lymphome de Burkitt</li><li>• Lymphome immunoblastique</li><li>• Lymphome cérébral primaire</li><li>• Infection à Mycobacterium avium ou kansasii, disséminée ou extrapulmonaire ;</li><li>• Pneumonie à Pneumocystis jirovecii</li><li>• Pneumopathie bactérienne récurrente</li><li>• Leuco-encéphalopathie multifocale progressive (LEMP)</li><li>• Septicémie à salmonella non typhi récurrente</li><li>• Toxoplasmose cérébrale</li><li>• Syndrome cachectique dû au VIH.</li></ul>
--------------------	---

## **Annexe 2** : Stades cliniques proposée par l'OMS révision 2006

<b>Stade 1</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Patient asymptomatique,</li> <li>• Adénopathies persistantes généralisées</li> </ul>
<b>Stade 2</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Perte de poids inférieure à 10% du poids corporel involontaire.</li> <li>• Dermite séborrhéique.</li> <li>• Prurigo typique.</li> <li>• Atteinte fongique des ongles</li> <li>• Ulcérations buccales récurrentes</li> <li>• Chéilite angulaire (perlèche)</li> <li>• Zona</li> <li>• Infection récidivantes des voies respiratoires supérieures</li> </ul>
<b>Stade 3</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Perte de poids supérieure ou égale à 10% du poids corporel involontaire.</li> <li>• Diarrhée chronique inexpliquée pendant plus de 1mois.</li> <li>• Fièvre prolongée inexpliquée (intermittente ou constante) pendant plus de 1mois.</li> <li>• Candidose buccale persistante.</li> <li>• Leucoplasie chevelue buccale typique.</li> <li>• Tuberculose pulmonaire certaine ou probable dans les 2 années précédentes.</li> <li>• Infections bactériennes sévères (pneumopathie, salpingite, septicémie, pyélonéphrite, prostatite).</li> <li>• Stomatite ulcéro-nécrotive aigue, gingivites ou périodonites</li> <li>• Anémie (&lt;8g/dl), neutropénie (&lt;(500 10<sup>6</sup>/l) et/ou une thrombopénie chronique</li> </ul>

<b>Stade 4</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Syndrome cachectique lié au VIH,</li><li>• Pneumopathie à <i>Pneumocystis pneumoniae</i> (jiroveci).</li><li>• Tuberculose extra-pulmonaire dans les antécédents</li><li>• Sarcomes de kaposi</li><li>• Toxoplasmose cérébrale.</li><li>• Cryptosporidiose, accompagnée de diarrhée pendant plus de 1mois.</li><li>• Septicémie à salmonelles non typiques récurrentes</li><li>• Isosporose chronique</li><li>• Candidose de l'œsophage, de la trachée, des bronches ou des poumons</li><li>• herpès cutané muqueux pendant plus de 1mois.</li><li>• Mycobactériose atypique généralisé</li><li>• Herpès viscéral quelle que soit la durée, ou infection viscérale à CMV</li><li>• Cryptococcose extra-pulmonaire</li><li>• Lymphome (cérébral ou B non hogdkinien) ou autres tumeurs solides associées au VIH</li><li>• Leuco-encéphalopathie multifocale progressive ou encéphalopathie à VIH.</li><li>• Histoplasmose ou coccidioïdomycose.</li><li>• Leishmaniose atypique disséminée</li><li>• Cancer invasif du col utérin.</li><li>• Néphropathie ou cardiopathie symptomatique associées au VIH</li></ul>
----------------	---

### **Annexe 3 : Evaluation des tests rapides pour le dépistage de l'infection à VIH**

M ou Mme .....

Dr (Mr) .....

m a proposé de participer à l'étude « Evaluation des performances des tests rapides ..... ».

J'ai compris après les informations reçues, l'intérêt de cette étude.

J'en ai discuté avec le personnel médical et/ou paramédical qui m'a expliqué les avantages et les contraintes de cette étude.

J'ai notamment bien compris que je suis libre d'accepter ou de refuser cette proposition, sans en être inquiété(e) et en continuant à bénéficier des mêmes prestations de services dans la structure sanitaire qui m'accueille.

J'accepte donc librement de participer à cette étude.

J'autorise que les données confidentielles qui me concernent soient consultées et analysées par les personnes qui collaborent à cette évaluation et qui sont tenues au secret médical.

Fait à Abidjan, le .../.../.....

Code du patient : .....

Signature

Je soussigné, Dr (Mr) \_\_\_\_\_, certifie avoir expliqué à la personne susnommée l'intérêt et les modalités de participation à notre étude. Je m'engage à faire respecter les termes de ce formulaire de consentement, les droits et libertés individuels ainsi que les exigences d'un travail scientifique.

Fait à Abidjan, le .../.../.....

Signature

## Résumé

La Côte d'Ivoire, faisant partie des pays les plus touchés par le fléau du VIH/ sida et où circulent les deux sérotypes du VIH, une bonne prise en charge de personnes vivant avec le VIH (PVVIH) et partant une prévention adéquate passe par un dépistage efficace. Pour cela l'on doit disposer d'un algorithme de dépistage présentant des performances optimales.

L'objectif de notre étude était de déterminer les performances techniques et les caractéristiques opérationnelles de l'algorithme de dépistage (i) Determine<sup>®</sup>+ Stat Pak<sup>®</sup> au poste de dépistage ; (ii) Determine<sup>®</sup>+ Genie III HIV-1/HIV-2<sup>®</sup> +/- Stat Pak<sup>®</sup> au laboratoire lors du bilan initial.

Notre étude s'est déroulée de Septembre à Novembre 2012 dans trois structures sanitaires (CePReF, CNTS et IPCI) sur 377 échantillons de sérum/plasma. Les tests de référence étaient le test MUREX VIH-1.2.0 de DIASORIN<sup>®</sup> pour dépistage et un test ELISA peptidique pour le sérotypage.

L'algorithme évalué a présenté de très bonnes performances de dépistage qui se traduisaient par une sensibilité et une spécificité de 100%.

L'algorithme a également présenté un bon pouvoir discriminant avec une concordance globale de 94,54 % et un coefficient KAPPA égal à 0,89.

Cependant il a été observé 31% de résultats faussement VIH-1+2.

L'algorithme évalué peut être utilisé pour le dépistage de l'infection à VIH en Côte d'Ivoire.

**MOT CLES :** CÔTE D'IVOIRE, VIH/sida, ALGORITHME, DEPISTAGE.