

MINISTRE DES ENSEIGNEMENTS SECONDAIRE,
SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
(MESSRS)

BURKINA FASO
Unité-Progrès-Justice

SECRETARIAT GENERAL

UNIVERSITE POLYTECHNIQUE DE BOBO-DIOULASSO

INSTITUT DU DEVELOPPEMENT RURAL



Année universitaire 2009-2010

N° d'ordre :

Sérologies VIH indéterminées par utilisation des tests rapides pour le diagnostic de l'infection à VIH chez les femmes enceintes à Bobo-Dioulasso, Burkina Faso

MEMOIRE

Présenté et soutenu publiquement le 24 Juillet 2010 pour l'obtention du :

Diplôme d'Etudes Approfondies (DEA)
option Biologie Appliquée et Modélisation des Systèmes Biologiques (BA/MSB)

Par :

Dramane KANIA
PharmD

JURY

Directeur :
Pr Ag Lassana SANGARE

Co-Directeurs :

- Dr François ROUET
- Dr Juliette DIALLO/TRANCHOT

Président : Pr Georges Anicet OUEDRAOGO
Membres : Pr Adrien Marie Gaston BELEM
Dr Juliette DIALLO/TRANCHOT

DEDICACES

Je dédie ce travail :

☞ *A mon père*

Vous n'avez managé aucun effort pour me soutenir pendant toutes mes études. Puisse le temps vous permettre de recevoir notre gratitude.

☞ *A ma mère défunte*

Vos prières quotidiennes et vos encouragements m'ont toujours soutenu depuis mon enfance ; Recevez toute ma gratitude et que Dieu vous accorde sa miséricorde et vous ouvre la porte du paradis. Que ton âme repose en paix !

☞ *A ma très chère et tendre épouse Haguir*

Pour ton amour, ton soutien, ta compréhension, ta tolérance, ta patience et ta foi inébranlable dans l'accomplissement de cette œuvre.

☞ *A mes frères et sœurs*

Ce travail est aussi le vôtre, qu'il nous apporte bonheur et joie et qu'il nous unisse davantage. Trouvez ici, l'expression de mes sentiments fraternels.

REMERCIEMENTS

Je tiens ici à dire quelques mots à l'endroit de tous mes encadreurs et à tous ceux qui, d'une manière ou d'une autre, de près ou de loin ont contribué à notre formation et à la réalisation de ce travail. Ces remerciements s'adressent particulièrement :

☞ **Au Pr. Ag. Lassana SANGARE,**

Cher Maître, merci d'avoir accepté de diriger ce travail malgré vos multiples occupations. Professeur, nous avons eu le privilège de travailler à vos côtés pendant notre thèse de fin d'études en pharmacie, vos immenses qualités scientifiques, la maîtrise des disciplines que vous enseignez, font de vous un homme très respecté, écouté et surtout très sollicité. Votre rigueur, votre persévérance et votre amour du travail bien fait seront des éléments qui éclaireront certainement notre sentier. Encore merci pour l'honneur que vous nous avez fait d'accepter de diriger ce mémoire.

☞ **Au Dr François ROUET,**

Merci d'avoir accepté de codiriger ce travail. Vos grandes connaissances scientifiques et surtout vos qualités de chercheur à travers soutien, appui et encouragements de tous les jours pendant ces deux (2) dernières années passées ensemble constituent les motifs de notre grande admiration pour vous. Trouvez ici l'expression de notre profonde et sincère reconnaissance.

☞ **Au Pr. Georges Anicet OUEDRAOGO,**

Vous nous avez ouvert les portes de ce DEA. Vos qualités d'enseignant-chercheur force notre grande admiration. Merci pour l'honneur que vous nous faites d'accepter de présider ce mémoire.

☞ **Au Pr Adrien Marie Gaston BELEM,**

Merci pour l'honneur que vous nous faites d'accepter de juger ce travail malgré vos multiples sollicitations mémoire. Trouvez ici l'expression de notre profonde reconnaissance.

☞ **Au Jean Bosco OUEDRAOGO,**

Merci pour la belle initiative ayant abouti à l'ouverture de ce cours de DEA à Bobo-Dioulasso. Vos qualités de chercheur-enseignant force notre grande admiration. Puisse ce travail à la hauteur de vos attentes.

☞ **Au Dr Nicolas MEDA,**

Investigateur principal de l'essai Kesho-Bora, merci de m'avoir accepté dans votre équipe et surtout pour la grande confiance que vous avez placée en ma modeste personne. Trouvez ici l'expression de notre profonde et sincère reconnaissance. Puisse ce travail ne pas vous décevoir.

☞ **Au Dr Juliette DIALLO/TRANCHOT,**

Merci pour l'honneur que vous nous faites d'accepter de juger et codiriger ce mémoire malgré vos multiples occupations. Trouvez ici l'expression de notre profonde et sincère reconnaissance.

☞ **Aux Drs Fao, Gouem, Valéa, Hien, Somda, Ouédraogo, Drabo et à Mr Compaoré**

Pour votre implication dans le dépistage VIH et le suivi des femmes enceintes à Bobo-Dioulasso dans le cadre de l'étude Kesho-Bora.

☞ **A l'ANRS, OMS, CDC et NIH**

Pour l'aide et l'assistance financière et technique ayant permis la mise en place et réalisation de l'essai Kesho-Bora.

☞ **AXIOS Internationale**

Pour l'aide et le soutien en réactifs (Determine™ HIV1/2) et en médicaments (Névirapine comprimé et suspension buvable) à travers son Programme de donation PTME.

☞ **Aux sites collaborateurs** : Nairobi, Mombasa (Kenya), Kwazulu Natal, Durban (Afrique du Sud).

☞ Au personnel du projet Kesho Bora, du laboratoire de Virologie et du LAM du Centre Muraz.

☞ Au personnel des Districts sanitaires et CSPS de la ville de Bobo-Dioulasso.

☞ A tous ceux qui m'ont aidé.

TABLE DES MATIERES

Dédicace	i
Remerciements	ii
Table des matières	iv
Tableaux et figures	v
Abréviations et sigles	ix
Résumé	xii
INTRODUCTION	1
I. ENONCE DU PROBLEME	2
II. LES VIRUS DE L'IMMUNODEFICIENCE HUMAINE (VIH)	5
1. Généralités et classification.....	6
2. Structure	6
3. Organisation du génome viral	7
4. Cibles virales et cycle de multiplication du VIH	9
5. Epidémiologie du VIH	10
6. Transmission du VIH	11
7. Histoire naturelle de l'infection et cinétique de marqueurs du VIH	11
8. Diagnostic virologique et suivi de l'infection à VIH au laboratoire	12
8.1. Diagnostic chez l'adulte et l'enfant de plus de 18 mois	12
8.1.1. Tests ELISA	13
a) Tests de « 1 ^{ère} génération »	13
b) Tests de « 2 ^{ème} génération »	13
c) Tests de « 3 ^{ème} génération »	13
d) Tests de « 4 ^{ème} Génération »	13
8.1.2. Tests rapides	13
a) Tests d'agglutination	13
b) Tests immunochromatographiques	14
c) Tests d'immunofiltration	14
d) Tests d'immunodot	14
8.1.3. Tests de confirmation	14
8.1.4. Stratégies de dépistage utilisées	14
8.2. Diagnostic chez le nouveau-né	15

8.3. Suivi biologique de l'infection à VIH	15
9. Traitement de l'infection à VIH	16
10. Prévention du VIH	17

SIGNIFICATION DES SEROLOGIES VIH INDETERMINEES CHEZ LES FEMMES ENCEINTES A BOBO-DIOULASSO

1. OBJECTIFS	20
1.1. Objectif Général	20
1.2. Objectifs spécifiques	20
2. MATERIEL ET METHODES	21
2.1. Type d'étude, période et durée de l'étude	21
2.2. Cadre de l'étude	21
2.2.1. Centres de Santé et de Promotion Sociale urbains	21
2.2.2. Laboratoire de Virologie du Centre MURAZ	21
2.3. Population d'étude	22
2.4. Matériel et réactifs utilisés	22
2.4.1. Matériel et équipements de laboratoire	22
2.4.2. Réactifs	23
2.5. Prélèvements, transport, et conservation des échantillons	23
2.6. Analyses virologiques des échantillons	24
2.6.1. Algorithme de dépistage et des tests complémentaires utilisés	24
2.6.2. Tests sérologiques de dépistage réalisés dans les sites périphériques ..	25
a) Test Determine™ HIV-1/2	26
b) Test Genie II® HIV-1/HIV-2	27
c) Test ImmunoComb II® HIV-1 & 2 BiSpot	28
2.6.3. Tests complémentaires réalisés au laboratoire de Virologie du Centre MURAZ	29
a) Tests Vironostika® HIV Uni-Form II Ag/Ab	29
b) Test Murex® HIV Ag/Ab	30
c) Technique PCR en temps réel	30
2.7. Analyses statistiques des données	34
2.8. Considérations éthiques	34

FIGURES ET TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Structure du VIH-1	7
Figure 2. Organisation et fonctions des gènes du génome du VIH-1	8
Figure 3. Cycle de réplication du VIH	10
Figure 4. Cinétique des différents marqueurs de l'infection par le VIH	12
Figure 5. Stratégie diagnostique utilisée dans notre étude	24
Figure 6. Bandelette de test Determine™ HIV1/2	27
Figure 7. Représentation schématique d'un test Genie II® HIV-1/HIV-2	28
Figure 8. Photo de dents de peigne avec spots de test ImmunoComb II® HIV-1&2 BiSpot	29
Figure 9. Photo des constituants du kit Generic HIV Charge Virale (Biocentric)	31
Figure 10. Photo d'un ABI 7000 (Applied Biosystems) et son système informatique	32
Figure 11. Programme thermique de la PCR en temps réel	32
Figure 12. Plots d'amplification obtenus pour les différentes dilutions de standard externe (intensité de fluorescence en fonction du nombre de cycles)	33
Figure 13. Droite d'étalonnage obtenue par dilutions du standard externe (nombre de copies d'ARN en log en fonction du nombre de cycles)	33
Figure 14. Répartition des femmes enceintes dépistées pour le VIH en fonction de l'âge.	35
Figure 15. Répartition des femmes enceintes dépistées pour le VIH en fonction du statut matrimonial	36
Figure 16. Répartition des femmes enceintes dépistées pour le VIH en fonction de la gestité	37

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I. Stratégies de dépistage du VIH en fonction de l'objectif du test et de la prévalence de l'infection dans la population donnée 15

Tableau II. Résultats du dépistage sérologique VIH par utilisation des tests rapides suivant un algorithme séquentiel chez les femmes enceintes à Bobo-Dioulasso, 2005-2007 37

Tableau III. Résultats obtenus par ELISA sur les échantillons indéterminés 38

Tableau IV. Résultats par PCR ARN VIH-1 des échantillons positifs en ELISA 39

ABREVIATIONS ET SIGLES

- Ac : Anticorps
- AC11/AC12 : Action coordonnée n°11 / Action coordonnée n°12
- ADN : Acide désoxyribonucléique
- AES : Accidents d'exposition au sang
- Ag : Antigène
- ANRS : Agence Nationale de Recherches sur le Sida et les hépatites virales
- ARN : Acide ribonucléique
- ARV: Antirétroviraux
- CA : Capsule virale
- CD4 : Cluster de Différenciation
- CM : Centre MURAZ
- CNLS/IST : Conseil National de lutte contre le Sida et les Infections Sexuellement Transmissibles
- CPN : Consultation prénatale
- CRF : Circulating recombinant form
- CSPS : Centre de santé et de promotion sociale
- CV : Charge virale
- DBS : Dried Blood Spot
- dNTP : désoxyribonucléosides triphosphates
- DO : Densité optique
- DSF : Direction de la Santé de la Famille
- EDTA : Acide éthylène diamine tetra-acétique
- EIA : Enzyme Immuno-Assay
- ELISA: Enzyme linked immunosorbent assay
- env* : enveloppe
- EPA : Etablissement Public de l'Etat à caractère Administratif
- EPS : Etablissement Public de Santé
- ESTHER : Ensemble pour une Solidarité Thérapeutique Hospitalière En Réseau
- gag* : group antigen ou antigène de groupe
- gp* : glycoprotéines
- HTLV : Human T-cell Leukemia Virus
- IFI : Immunofluorescence indirecte

Ig : Immunoglobuline

IgA: Immunoglobuline de type A

IgG: Immunoglobuline de type G

IgM: Immunoglobuline de type M

IV : Intraveineuse

LIA : Immunoanalyse en ligne

LTR : Long Terminal Repeat

M : Major ou main

MA : Matrice protéique

N : Nouveau ou New

NC : Nucléocapside

nef: negative factor

O : Outlier

OCCGE : Organisation de Coordination et Coopération pour la lutte contre les Grandes Endémies

OMS : Organisation Mondial de la Santé

ONUSIDA : Programme commun des Nations Unies sur le VIH/SIDA

PA : phosphatase alcaline

PBMC : Peripheral blood mononuclear cell

PCR : Polymerase chain reaction

pol : polymérase

PTME : Prévention de la transmission mère-enfant

PvVIH : Personne vivant avec le VIH/SIDA

rev : regulator of viral protein expression

RIPA : radio-immunoprécipitation

RT : Reverse transcriptase

SIDA : Syndrome de l'immunodéficience acquise

SU : surface

tat : transactivator

TI : Transcriptase inverse

TM : transmembranaire

TR : Tests rapides

URF : unique recombinant form

vif : virion infectivity factor ou facteur d'infectivité virale

VIH : virus de l'immunodéficience humaine

VIH-1 : Virus de l'Immunodéficience Humaine de type 1

VIH-2 : Virus de l'Immunodéficience Humaine de type 2

vpr : viral protein R

vpu : viral protein U

vpx : viral protein X

WB : Western blot

RESUME

Sérologies VIH indéterminées par utilisation des tests rapides pour le diagnostic de l'infection à VIH chez les femmes enceintes à Bobo-Dioulasso.

Le diagnostic biologique de l'infection à VIH chez l'adulte repose essentiellement sur le dépistage sérologique. L'algorithme de référence associe un test ELISA très sensible et un test de confirmation comme le Western Blot. A l'instar de nombreux pays à ressources limitées, l'algorithme en vigueur pour la PTME au Burkina Faso, utilise la combinaison de deux tests rapides. Bien que cet algorithme soit efficace dans le diagnostic du VIH, il reste cependant que les résultats obtenus ne sont pas toujours concluants. Le but de la présente étude était d'étudier la fréquence et la signification des résultats VIH dits indéterminés ou discordants chez des femmes enceintes dépistées selon un algorithme séquentiel pour un programme de PTME à Bobo-Dioulasso (Burkina Faso) en vue de définir une démarche à suivre lors de l'annonce de ce type de résultat.

Au total 44 653 femmes ont été prélevées et testées de 2005 à 2007. Les prélèvements de sang ont été d'abord testés par le test Determine™ HIV1/2 (ABBOTT). Les échantillons non réactifs étaient considérés comme NEGATIFS et les positifs ont été testés par le kit Génie II® HIV-1/HIV-2 (BIORAD). Si celui-ci était réactif, le résultat était considéré comme POSITIF. En cas de discordance entre les deux tests sur deux prélèvements différents, le résultat était considéré « INDETERMINE » ou « DISCORDANT » et l'échantillon était testé par l'utilisation de tests ELISA de 4^{ème} génération Murex® HIV Ag/Ab (Abbott, Dartford Kent, UK) ou Vironostika® HIV Uni-Form II Ag/Ab (BioMérieux Laboratories, Boxtel, The Netherlands). Enfin, seuls les positifs en ELISA ont été testés pour la recherche d'ARN du VIH-1 par la RT-PCR en temps réel utilisant le kit Generic HIV Charge Virale® (Biocentric, Bandol, France) après extraction manuelle par procédure Qiagen.

Sur 44 653 prélèvements testés en 3 ans, 1 903 (4,3%) étaient réactifs à la fois au DETERMINE et au GENIE II. Par contre 597 (1,3%) étaient réactifs au premier test et non réactifs au second. Cette discordance concernait 1,2% des prélèvements en 2005, 1,3% en 2006 et 1,4% en 2007. Trois cent soixante seize des 597 (376/597 soit 63,0%) résultats « indéterminés », ont été testés par ELISA. Seulement 15 (15/367 soit 4,1%) étaient positifs en ELISA. Parmi ces derniers, 11 ont été testés par RT-PCR en temps réel à la recherche d'ARN VIH-1 et ils étaient tous indétectables donc négatifs.

Dans notre contexte où la prévalence du VIH est relativement faible, les femmes enceintes ayant un résultat indéterminé (c'est-à-dire 1^{er} test rapide positif et 2^{ème} test rapide négatif) peuvent être considérées comme négatives car ce sont dans leur très grande majorité des réactions faussement positives non spécifiques qui peuvent d'ailleurs disparaître dans le temps.

Auteur: *Dramane KANIA, PharmD*
S/C IDR/UPB 01 BP 1091 Bobo-Dioulasso 01 BURKINA FASO
Draka3703@yahoo.fr

Mots clés : VIH ; tests rapides, résultats indéterminés ; PTME.

INTRODUCTION

I. ENONCE DU PROBLEME

Selon les données de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) et du Programme commun des Nations Unies sur le VIH/SIDA (ONUSIDA) en 2009, il y avait plus de 33,4 millions de personnes vivant avec le VIH/SIDA dans le monde dont plus de 67% vivent en Afrique subsaharienne. Chaque jour, il y a environ 7397 nouvelles infections et 5479 décès (40). Grâce aux nombreuses initiatives d'accès aux antirétroviraux (ARV) tels ESTHER, TAP/Banque Mondiale, Fonds Mondial de lutte contre le Sida, la Tuberculose et le Paludisme, le nombre de patients sous traitement ARV dans nos pays n'a cessé de croître pendant ces dernières années.

La porte d'entrée de la prise en charge est le dépistage de l'infection par le VIH. L'algorithme de référence associe un test de dépistage ELISA (Enzyme linked immunosorbent assay) mixte, très sensible et un test de confirmation comme le Western Blot (WB) pour la confirmation des résultats positifs au premier test. Cette méthode de diagnostic est non seulement très coûteuse mais sa réalisation est longue et nécessite un personnel qualifié et expérimenté.

Fort de ce constat, l'OMS a recommandée en 1997 (39) des stratégies de dépistage utilisant des combinaisons de tests VIH en fonction de l'objectif du dépistage, des caractéristiques des tests (sensibilité - spécificité) et de la prévalence de l'infection à VIH dans la population. Ces stratégies ont été évaluées au Burkina Faso en 1999 (34) et mise à jour en 2003 (13).

L'algorithme en vigueur pour le diagnostic sérologique de l'infection à VIH au Burkina Faso (13), utilise la combinaison de deux tests rapides (TR) dont le premier est mixte, très sensible et le second spécifique et discriminant. En effet, les TR de dépistage du VIH ont montré leur efficacité et sont souvent les seuls réalisables en contexte médical dans les centres de santé périphériques. Ils permettent de déterminer rapidement le statut VIH chez les adultes et les enfants de plus de 18 mois en Afrique sub-Saharienne (10, 49). Contrairement aux tests ELISA et au WB, les TR de détection du VIH sont moins chers, de technologies simple, faciles à utiliser et avec un temps de réalisation très réduit (5 à 30 minutes). La plupart ne nécessite pas de réfrigération pour leur conservation. Ils ne requièrent pas non plus d'équipement de laboratoire sophistiqué, ni d'électricité, ni de personnel qualifié et expérimenté. En outre, la lecture des résultats est visuelle. Pour la réalisation des TR, différents liquides biologiques peuvent être utilisés tels que le sérum, le plasma, l'urine ou la salive. De plus, les TR discriminants permettent de distinguer le VIH de type 1 (VIH-1) du

VIH de type 2 (VIH-2). Ils ont démontré leur efficacité en appliquant une approche qualité telle que recommandée par OMS (41).

Au regard de leurs faibles coûts et de leurs avantages techniques, ils ont été adoptés et introduits dans les algorithmes et guides nationaux de dépistage et de diagnostic de l'infection à VIH. Par conséquent ils sont largement utilisés dans de nombreux pays africains. De nos jours, leur utilisation au cabinet du médecin et au pied du lit du malade dans les services cliniques est suggérée dans les endroits où le plateau technique ne permet pas la réalisation de tests ELISA et WB. Leurs sensibilités et spécificités ont été évaluées au Kenya (17), en Tanzanie (32), en Uganda (23), en Zambie (50), en Afrique du sud (37), au Cameroun (1), en République Centrafricaine (36), en République Démocratique du Congo (30), au Ghana (2), en Côte d'Ivoire (53) et au Burkina Faso (13, 33, 47). Chacun de ces pays a évalué et adopté un algorithme de dépistage applicable et approprié à son contexte épidémiologique utilisant la combinaison de deux ou trois tests rapides en parallèle ou en série.

Un des objectifs primaires des TR de dépistage du VIH est de minimiser l'obtention de résultats dits « indéterminés » (c'est-à-dire les résultats « discordants » lorsque deux tests rapides différents sont utilisés). Pour les conseillers et le personnel de santé, il est souvent très difficile d'annoncer ce type de résultats aux patients. C'est particulièrement le cas dans le contexte de la prévention de la transmission mère-enfant (PTME) du VIH où le staff médical a besoin de connaître rapidement le statut de la femme pour prendre une décision médicale immédiate qui consiste à l'administration ou non des ARV en prophylaxie (9, 44, 45). La réalisation d'exams complémentaires ou la convocation de la femme deux (2) semaines après n'est pas appropriée en pratique hospitalière courante dans nos pays car cela prolongerait d'avantage le délai de décision médicale. Ainsi, les femmes peuvent accoucher avant l'obtention des résultats définitifs et sans que le staff médical ne soit bien situé sur une décision rationnelle car elles sont parfois vues tardivement en consultation prénatale (très souvent au moment de l'accouchement). Considérées ces femmes comme « infectées par le VIH » par l'administration d'ARV prophylactique reste inquiétante au regard du stress émotionnel et des conséquences sociales et psychologiques que tout cela pourrait créer chez elles. Cependant il y a très peu d'études qui ont été réalisées sur la signification de ce type de résultat par utilisation des TR en Afrique sub-Saharienne.

C'est pourquoi, nous avons entrepris la présente étude réalisée chez les femmes enceintes avec un faible risque de séroconversion VIH visant (i) à connaître la fréquence et la signification des résultats de type « indéterminés », (ii) à aider les praticiens à prendre une

décision médicale plus rationnelle et (iii) à définir une conduite à suivre pour l'annonce de résultats « indéterminés » aux femmes enceintes selon une approche de santé publique dans les sites périphériques de dépistage de l'infection par le VIH.

II. LES VIRUS DE L'IMMUNODEFICIENCE HUMAINE (VIH)

1. GENERALITES ET CLASSIFICATION

Appartenant à la famille des *Retroviridae*, le VIH fait partie des *Lentivirus*. C'est un virus à ARN monocaténaire non segmenté, de polarité positive. Il possède une capsid polyédrique et une enveloppe membranaire. Comme tout rétrovirus, leur génome doit être rétro-transcrit en ADN par une ADN polymérase ARN dépendante, appelée transcriptase inverse (TI).

Chez le sujet infecté, le VIH entraîne une infection virale lente toujours mortelle en l'absence de traitement ARV, dont la phase terminale est appelée syndrome de l'immunodéficience acquise (SIDA).

Il existe deux types de VIH : le VIH de type 1 (VIH-1) et le VIH de type 2 (VIH-2). Le VIH-1, découvert en 1983 (8), est responsable de la pandémie actuelle de l'infection à VIH. Il comporte trois (3) groupes : M (**m**ajor, **m**ain, ou **m**ost), O (**o**utlier) et N (**n**ew). Très récemment (Août 2009), l'existence d'un quatrième groupe appelé « P » a été évoqué par une équipe française chez une patiente camerounaise (48). Le VIH-1 du groupe M comprend 9 sous-types (A, B, C, D, F, G, H, J et K) et plus de 40 formes recombinantes circulantes (ou CRF pour *circulating recombinant forms*) et des URF (*unique recombinant forms*).

L'existence du VIH-2 a été évoquée en 1985 par Francis Barin en collaboration avec une équipe Sénégalaise chez des patients d'Afrique de l'Ouest (7). Le virus a été découvert par une équipe de l'Institut Pasteur de Paris et appelé LAV-2. Il est moins hétérogène et comporte 7 sous-types (A à G).

2. STRUCTURE

Le virus comporte, de l'extérieur vers l'intérieur (57) :

- une enveloppe membranaire (ou péplos) dont la bicouche lipidique provient de la membrane cytoplasmique et se trouve hérissée de spicules glycoprotéiques (gp). Celles-ci comportent une partie interne, la gp41 ou glycoprotéine transmembranaire (TM) et une partie externe, la gp120 ou glycoprotéine de surface (SU) ;
- une matrice protéique qui tapisse la face interne de l'enveloppe. Elle est faite de la p17 (MA) ;
- et une capsid virale en forme de cône tronqué faite de protéine p24 (CA). À l'intérieur se trouve les enzymes (transcriptase inverse, intégrase et protéase) et l'ARN entouré de la protéine de nucléocapsid (NC).

L'ARN viral se trouve en deux exemplaires, sans qu'on sache la raison de cette diploïdie. La transcriptase inverse (TI) ou rétrotranscriptase (RT) ou en anglais *reverse transcriptase*

intervient en début de cycle. Elle est associée à l'intégrase (IN), enzyme nécessaire à l'intégration de l'ADN proviral dans l'ADN cellulaire et à la protéase (PR). Ces 3 enzymes sont des cibles potentielles pour la chimiothérapie antirétrovirale.

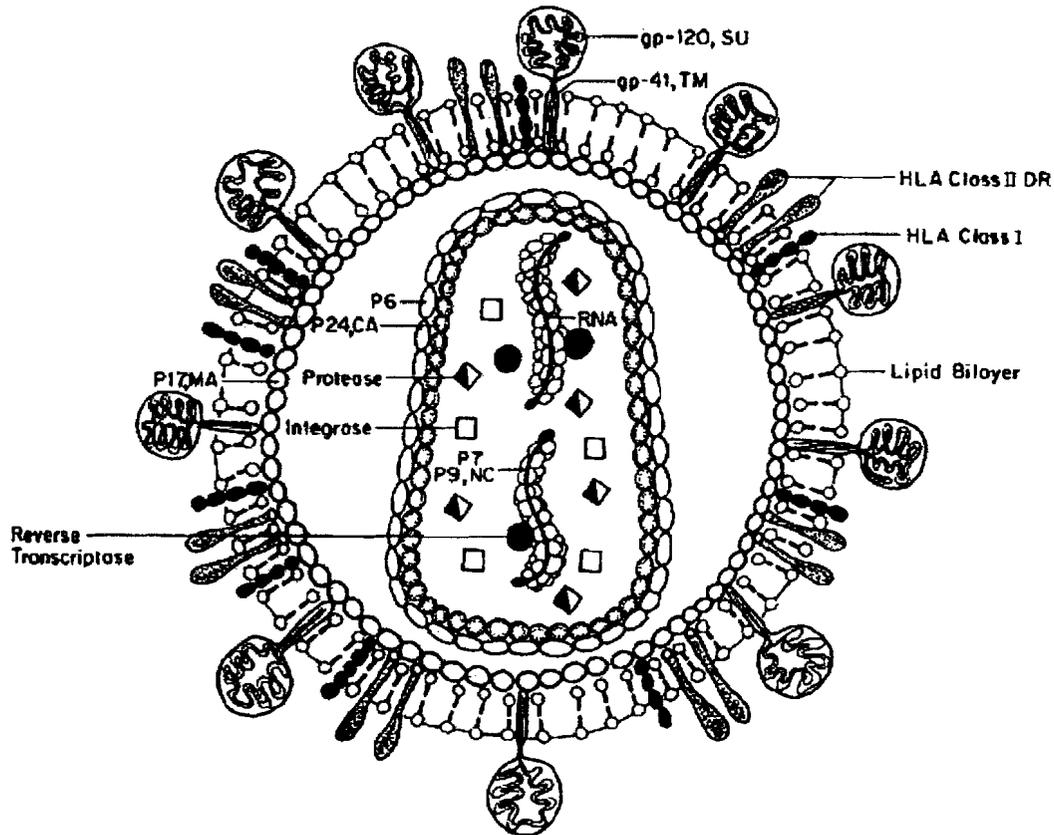


Figure 1. Structure du VIH-1 (57)

3. ORGANISATION DU GENOME VIRAL

Le VIH possède deux (2) molécules d'ARN, simples brins identiques formés de 9200 paires de bases, et comprend trois (3) gènes de structure (57) : *gag*, *pol* et *env*.

Le gène *gag* (group antigen ou antigène de groupe) code pour un précurseur polypeptidique de 55 Kd qui sera clivé par la protéase virale en protéines de la nucléocapside. Il s'agit des protéines associées à l'ARN (p15 pour le VIH1 et p12 pour le VIH2), de la protéine de matrice (p17 pour le VIH-1 et p16 pour le VIH-2) et de la protéine majeure de la capsid (p24 pour le VIH-1 et p26 pour VIH-2).

Le gène *pol* (polymérase) code pour la synthèse des enzymes nécessaires à la réplication du virus. Ce sont la transcriptase inverse (p66/p51 pour le VIH-1 ou p68 pour le VIH-2), l'intégrase (p31 pour le VIH-1 ou p34 pour le VIH-2) et la protéase virale p21.

Le gène *env* (enveloppe) code pour la synthèse d'une glycoprotéine de 160 Kd (gp160) qui est clivée en deux (2) glycoprotéines par une protéase cellulaire. Ce sont la glycoprotéine externe ou SU (gp120 pour le VIH-1 et la gp125 pour le VIH-2) et la glycoprotéine transmembranaire ou TM (gp41 pour le VIH-1 et gp36 pour le VIH-2).

Toutes ces protéines décrites ci-dessus sont capables d'engendrer la production d'anticorps spécifiques à des degrés divers.

Dans l'ADN proviral qui s'intègre dans le chromosome de la cellule hôte, les trois gènes de structures *gag*, *pol* et *env* sont encadrés par deux séquences répétitives appelés Long Terminal Repeat (LTR).

A côté de ces trois gènes classiques des rétrovirus, les génomes de VIH comportent aussi des gènes de régulation encore appelés gènes accessoires: *vif* (virion infectivity factor ou facteur d'infectivité virale), *vpr* (viral protein R), *tat* (transactivator), *rev* (regulator of viral protein expression) et *nef* (negative factor). Le gène *vpu* (viral protein U) n'est présent que chez le VIH-1. Il est remplacé par le gène *vpx* (viral protein X) chez le VIH-2.

HIV -I Genes and Their Locations

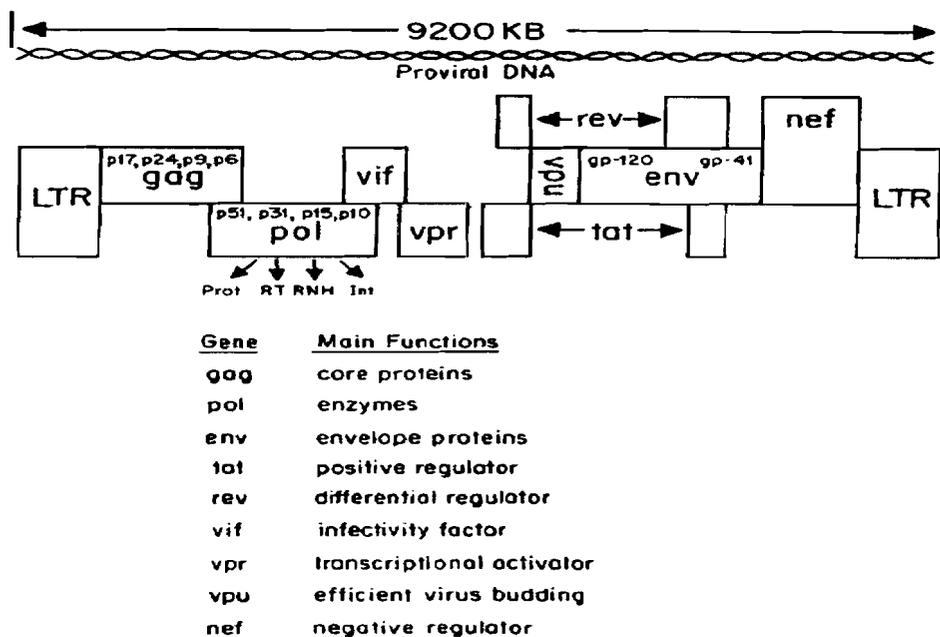


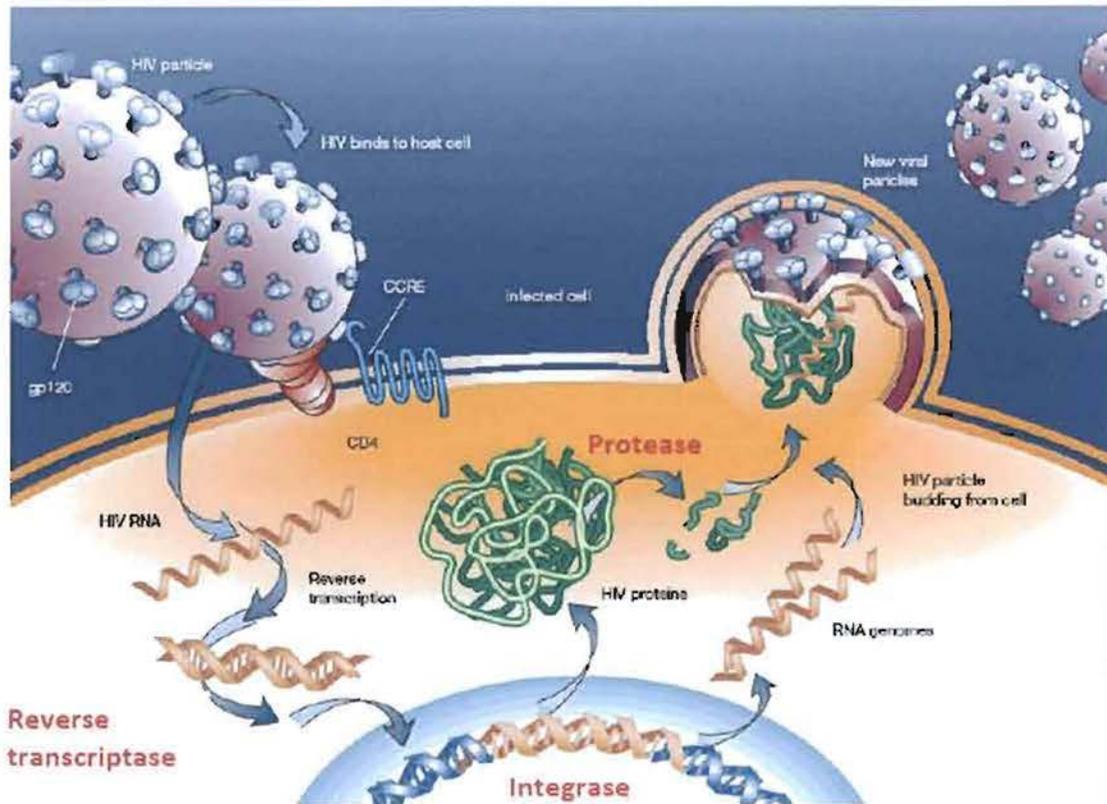
Figure 2. Organisation et fonctions des gènes du génome du VIH-1 (57)

4. CIBLES VIRALES ET CYCLE DE MULTIPLICATION DU VIH

Le VIH a une affinité obligatoire pour les cellules portant la molécule CD4, qui vont être à l'origine de la réplication virale du VIH. L'interaction virus/cellule nécessite aussi la présence d'une deuxième molécule de type corécepteurs (CXCR4 ou CCR5) (57, 64). Il existe principalement trois types de cellules cibles : les lymphocytes T CD4+, les monocytes-macrophages et les cellules dendritiques.

Le cycle de réplication du VIH comprend les étapes suivantes :

- l'attachement du virus à la membrane de la cellule cible par l'intermédiaire de la gp120 qui se fixe au récepteur CD4 et corécepteur.
- la fusion des membranes (virale et cellulaire) et pénétration du virus dans la cellule hôte par endocytose.
- la retrotranscription et intégration : dans le cytoplasme, l'ARN viral est d'abord transcrit en ADN proviral grâce à la RT. Ensuite l'ADN proviral est transformé en complexe d'intégration qui pénètre dans le noyau cellulaire et s'intègre dans l'ADN cellulaire grâce à l'intégrase.
- l'expression virale et sa régulation : grâce à l'action de l'ARN polymérase cellulaire, l'ADN proviral intégré est transcrit en ARN. Certains de ces ARN vont former les génomes d'une nouvelle génération de virus (ce sont les ARN génomiques) alors que d'autres, les ARN_m, (ARN subgénomiques) vont servir à la production des protéines de ces nouveaux virus. Le cycle devient alors productif.
- l'assemblage des protéines et des ARN viraux sous forme de structures sphériques qui bourgeonnent à la surface de la cellule infectée. Les enzymes protéolytiques poursuivent la maturation des protéines de structure et des enzymes virales. Les particules virales sont ensuite libérées dans le milieu extracellulaire. Elles peuvent alors infecter de nouvelles cellules cibles du sujet infecté.



Weiss, R.A. (2001) Nature, 410, 964

Figure 3. Cycle de réplication du VIH (64).

5. EPIDEMIOLOGIE DU VIH

En Décembre 2009, l'ONUSIDA estimait à 33,4 millions, le nombre de personnes vivant avec le VIH/SIDA dans le monde. Parmi elles, 2,1 millions étaient des enfants de moins de 15 ans et 31,3 millions étaient des adultes dont 15,7 millions étaient des femmes (40). Toujours, selon le rapport de l'ONUSIDA, 2,7 millions de personnes étaient nouvellement infectées en 2008 et 2,0 millions de décès étaient due au SIDA au cours de la cette même année.

Dans l'ensemble, l'Afrique subsaharienne supporte encore et toujours une part disproportionnée du fardeau mondial du VIH. Elle abrite 67% de toutes les personnes vivant avec le VIH/SIDA. Environ 70% des décès dus au sida en 2008 se sont produits dans cette région du monde (40).

Le VIH-1 est le plus répandu dans le monde et est responsable de plus de 90% de l'épidémie (21). Le groupe M est majoritaire avec de nombreux variants ayant des répartitions géographiques spécifiques. Les sous-types prédominants sont le sous-type C, responsable de 50 % des infections, principalement en Afrique du Sud et en Asie. Le sous-type A et le sous-type D sont principalement rencontrés en Afrique de l'Est, le CRF02-AG en Afrique de

l'Ouest et le sous-type B (12 %) en Amérique du Nord et en Europe. En Afrique centrale, co-circulent tous les différents groupes du VIH-1 (M, N et O), l'ensemble des sous-types du groupe M et la majorité des formes recombinantes (46). Récemment le groupe P a été évoqué chez un patiente Camerounaise (toujours en Afrique centrale) (48).

Au Burkina Faso, la prévalence de l'infection par le VIH était de 1,6% selon le rapport 2008 de l'ONUSIDA, avec 130 000 personnes (adultes et jeunes) vivant avec le VIH. Parmi ces personnes infectées, 46% étaient des femmes de plus de 15 ans. Le nombre d'enfants infectés était de 10 000 (65). Ce sont surtout le CRF06_cpx et le CRF02_AG qui sont prédominants (20, 43, 63) avec plus de 80% des sous-types VIH circulant. A Bobo-Dioulasso, une étude récente a rapporté 83% de CRF06_cpx et de CRF02_AG parmi l'ensemble des souches de VIH-1 (54).

6. TRANSMISSION DU VIH

Le VIH est retrouvé dans les liquides biologiques tels que le sang, le LCR, le sperme, les sécrétions vaginales, le lait, la salive, les larmes, et les urines. Sa transmissibilité, comme celle de tout autre virus, dépend de la charge virale, de la résistance physique du virus (5), du degré d'immunité du sujet infecté et de la réceptivité de la personne exposée. Il existe trois principaux modes de transmissions :

- la transmission par voie sexuelle qui représente la principale voie de transmission de l'infection (18). Les rapports homosexuels masculins constituent un risque élevé.
- la transmission par voie sanguine qui représente environ 11% répartis comme suit : transfusion sanguine (5%), toxicomanie IV (5,4%) et accidents d'exposition au sang ou AES (~ 0,6%) (18).
- la transmission verticale mère-enfant qui se produit soit pendant la grossesse (in utero, surtout au 3^{ème} trimestre), soit pendant l'accouchement (intra-partum ou périnatale) à travers les excoriations de la peau de l'enfant suite à une contamination par les sécrétions génitales de la mère infectée, soit au cours de l'allaitement (post-partum).

7. HISTOIRE NATURELLE DE L'INFECTION ET CINETIQUE DE MARQUEURS DU VIH

En absence de traitement antirétroviral, l'infection à VIH évolue en 3 phases : primo-infection, phase asymptomatique et SIDA. L'infection par le VIH entraîne l'apparition d'anticorps dirigés contre les protéines virales issues des gènes *env*, *gag*, *pol*. Ces anticorps

apparaissent après le premier contact infectant du virus avec l'organisme dans un délai moyen de six à huit semaines et persistent toute la vie du sujet infecté. Le diagnostic de la séropositivité repose sur la mise en évidence de ces anticorps spécifiques (38). La cinétique de ces marqueurs du VIH est illustrée dans la figure 4.

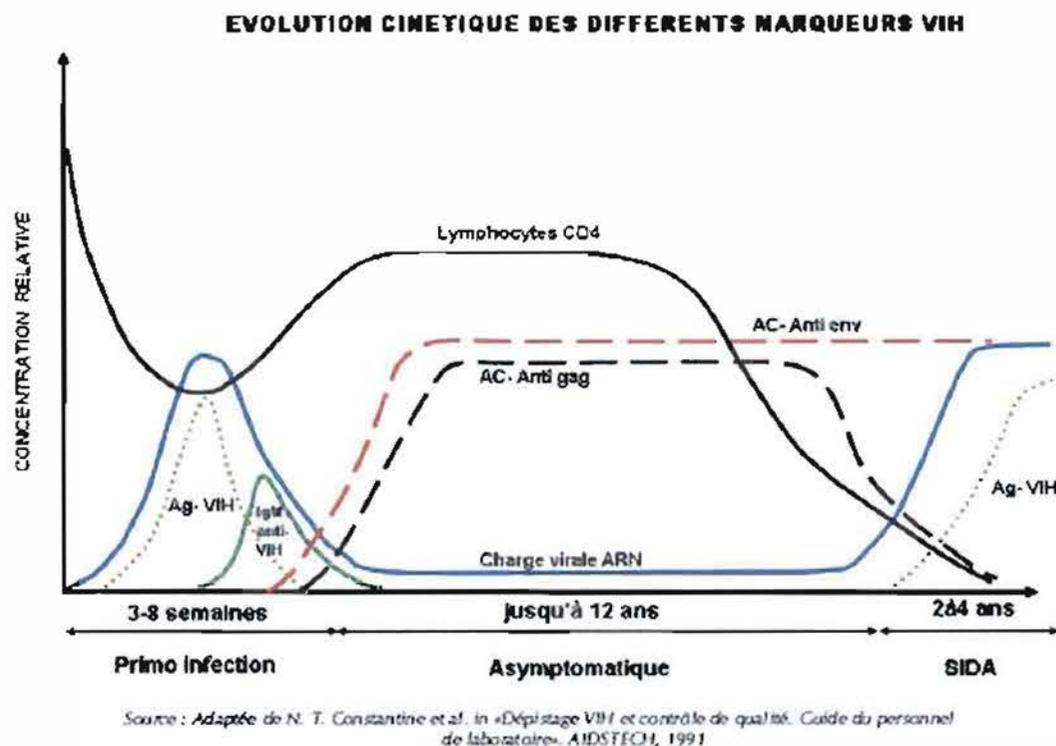


Figure 4. Cinétique des différents marqueurs de l'infection par le VIH

8. DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE ET SUIVI DE L'INFECTION A VIH AU LABORATOIRE

Le diagnostic de l'infection par le VIH utilise deux (2) types de méthodes : les méthodes indirectes qui détectent les anticorps anti-VIH et les méthodes directes qui recherchent le virus par culture cellulaire, les protéines virales (antigène P24) par ELISA ou le génome du virus (ADN proviral ou ARN plasmatique) par techniques moléculaires (PCR ou RT-PCR).

8.1. Diagnostic chez l'adulte et l'enfant de plus de 18 mois

En pratique courante chez l'adulte, le diagnostic repose sur l'utilisation des méthodes indirectes qui emploient des tests ELISA, des tests rapides et/ou des tests de confirmation.

8.1.1. Tests ELISA

Il existe des tests ELISA indirect, sandwich, de compétition et d'immunocapture. Depuis 1985, 4 générations de tests ont été développées. Elles diffèrent les unes des autres par la nature des antigènes utilisés. Les générations de tests récents ont une sensibilité et spécificité très élevée. Ces derniers ont permis une réduction importante de la fenêtre de détection sérologique des anticorps.

a) Tests de « 1^{ère} génération »

Les antigènes utilisés étaient un lysat de cellules infectées par le VIH, constitué d'un mélange de protéines virales et cellulaires. Ils étaient très sensibles mais très peu spécifiques.

b) Tests de « 2^{ème} génération »

Les antigènes employés étaient représentés par des protéines recombinantes obtenues par génie génétique et/ou des peptides synthétiques.

c) Tests de « 3^{ème} génération »

Les antigènes utilisés sont aussi des protéines recombinantes obtenues par génie génétique ou peptides synthétiques. Ces tests permettent de détecter les anticorps anti-VIH de classe IgM qui sont d'apparition plus précoce.

d) Tests de « 4^{ème} Génération »

Ils permettent la détection simultanée des anticorps anti-VIH1/2 et de l'antigène P24. Ces tests ont l'avantage de détecter l'infection 2 à 5 jours avant l'apparition des premiers anticorps de classe IgM.

8.1.2. Tests rapides

Les tests rapides sont basés sur plusieurs principes.

a) Tests d'agglutination

Les antigènes viraux sont fixés sur des particules de gélatine de latex, de polystyrène ou sur des érythrocytes. La présence d'anticorps (dirigés contre ces antigènes) dans le sérum à analyser entraîne une agrégation de particules sensibilisées avec les antigènes ou une

hémagglutination lorsqu'il s'agit d'hématies sensibilisées. Exemple : le test CAPILLUS HIV1/2.

b) Tests immunochromatographiques

Ils comportent un antigène du VIH immobilisé sur un support (membrane poreuse ou sémi-poreuse ou bandelette) auquel on ajoute l'échantillon à tester qui migre à travers le support. La présence des anti-VIH entraîne l'apparition d'une bande colorée au niveau de la fenêtre-patient. Exemples : le test DETERMINE HIV-1/2, le test OraQuick HIV-1/2.

c) Tests d'immunofiltration

Ils utilisent des supports en papier ou des membranes de nitrocellulose « coatée » avec l'antigène du virus. Ils utilisent à la fois le principe de l'immunochromatographie et celui de l'immunoconcentration. L'échantillon à tester migre à travers le support jusqu'au niveau de la fenêtre où les antigènes du virus sont déposés en une tâche ronde unique ou en deux tâches distinctes. Dans le cas du VIH, ces deux tâches permettent la discrimination entre VIH1 et VIH2. Exemple : le test GENIE II HIV-1/HIV-2.

d) Tests d'immunodot

Ici également les antigènes du virus sont déposés en une tâche ronde unique ou en deux tâches distinctes sur un support mais il n'y a pas de diffusion à travers celui-ci. Dans le cas du VIH, ces deux tâches permettent la discrimination entre VIH1 et VIH2. Exemple : le test IMMUNOCOMB II HIV-1&2 BiSpot.

8.1.3. Tests de confirmation

On peut citer : le Western Blot, l'immunoanalyse en ligne (LIA), l'immunofluorescence indirecte (IFI) et la radio-immunoprécipitation (RIPA). Ces tests sont rarement utilisés dans les pays à ressources limitées.

8.1.4. Stratégies de dépistage utilisées

Il existe plusieurs types d'algorithmes de dépistage de l'infection à VIH. L'algorithme de référence utilise un test ELISA suivi d'un test Western Blot pour confirmer les cas positifs. Les algorithmes alternatifs utilisent un seul test ou une combinaison de 2 ou 3 tests (ELISA ou tests rapides) en fonction de l'objectif du test, de sa sensibilité-spécificité et de la prévalence de l'infection.

Tableau I. Stratégies de dépistage du VIH en fonction de l'objectif du test et de la prévalence de l'infection dans la population donnée (39)

Objectif du dépistage	Signes cliniques	Prévalences de l'infection	Stratégie de dépistage
Sécurité transfusionnelle		Toutes prévalences	I (un seul test très sensible)
Séro-surveillance		>10%	I (un seul test très spécifique)
		≤10%	II (association de 2 tests)
Diagnostic	Symptôme	>30%	I (un seul test très spécifique)
		≤30%	II (association de 2 tests)
	Asymptomatique	>10%	II (association de 2 tests)
		≤10%	III (association de 3 tests)

8.2. Diagnostic chez le nouveau-né

Chez le nouveau-né né de mère séropositive et âgé de moins de 18 mois, la sérologie VIH n'est pas utile du fait de la présence possible des anticorps anti-VIH maternels (passage transplacentaire des IgG anti-VIH) (6, 27, 35, 42). Avant l'âge de 18 mois, il est donc nécessaire de rechercher directement et précocement le virus par culture, l'ADN dans les PBMC (ou sur DBS) par PCR, l'ARN dans le plasma (ou sur DBS) par RT-PCR ou l'antigène p24 par ELISA (antigénémie p24 ultrasensible) (42).

8.3. Suivi biologique de l'infection à VIH

Les examens biologiques recommandés pour le suivi de personnes infectées par le VIH comprennent les examens virologiques, immunologiques, hématologiques et biochimiques.

Les examens virologiques sont essentiellement la mesure de la charge virale (CV) ARN VIH-1 plasmatique par PCR qui sert à évaluer l'efficacité du traitement ARV chez les patients traités. La CV peut également être utilisée pour le suivi des patients non traités et le bilan de mise sous traitement ARV mais elle ne constitue pas un marqueur primordial d'initiation du traitement ARV chez un patient.

Il existe actuellement plusieurs techniques de PCR en temps réel pour la mesure de la charge virale de l'ARN plasmatique. Des techniques alternatives telles que la mesure de la charge virale plasmatique de l'antigène p24 (Antigénémie p24 Ultrasensible), la mesure de l'activité de la transcriptase inverse (test Cavid Exa Vir) (24, 59-61) et la mesure de la charge virale par cytométrie en flux (Invirion ViroTect™ Assay) ont été développées et proposées. Mais les techniques de PCR en temps réel restent de loin les plus utilisées et les plus efficaces dans le suivi des patients infectés.

En cas d'échec virologique ($CV > 1000$ copies/ml), les tests génotypiques de résistance du VIH-1 aux ARV sont réalisés pour rechercher la présence éventuelle de mutations de résistance aux ARV et déterminer les molécules auxquelles la souche virale reste encore sensible.

Les examens immunologiques sont basés essentiellement sur le comptage de lymphocytes T CD4+. Ils servent à mesurer le degré d'immunité des patients infectés. C'est un excellent marqueur pour la mise des patients sous traitement ARV. Ils peuvent aussi servir à évaluer l'efficacité immunologique du traitement ARV. Dans les pays à ressources limitées comme le Burkina Faso, du fait de leur plus grande accessibilité que la mesure de la CV, le taux de lymphocytes T CD4+ est parfois le seul marqueur biologique disponible pour le suivi thérapeutique des patients.

Les examens hématologiques (NFS) et biochimiques (ALAT, amylasémie, etc.) font partie des examens du bilan initial du traitement ARV. Aussi, en fonction des molécules utilisées, certaines analyses hématologiques et biochimiques sont recommandées lors du suivi afin d'évaluer la toxicité des ARV.

9. TRAITEMENT DE L'INFECTION A VIH

Cinq classes de médicaments se répartissent sur les quatre (4) cibles que sont la RT, la protéase, l'intégrase et l'enveloppe :

- les analogues de nucléosides inhibiteurs de la rétrotranscriptase (INTI ou NRTI, pour *nucleoside reverse transcriptase inhibitors* ou simplement IN). Exemples : Zidovudine (AZT), Lamivudine (3TC), Tenofovir (TDF).
- les inhibiteurs non nucléosidiques de la rétrotranscriptase (INNTI ou NNRTI pour *non nucleoside reverse transcriptase inhibitors* ou INN). Exemples : Névirapine (NVP), Efavirenz (EFV), Delavirdine (DLV).
- les inhibiteurs de la protéase (antiprotéases, IP ou PI, pour *protease inhibitors*). Exemples : Indinavir (IDV), Saquinavir (SQV), Ritonavir (RTV)
- les inhibiteurs de l'intégrase. Exemple : Raltegravir (RAL)
- les inhibiteurs d'entrée qui sont de deux sortes :
 - les inhibiteurs de la fusion, ciblés sur la gp41, comme l'Enfuvirtide (Fuzeon ou T-20).
 - et les « antagonistes des corécepteurs », avec notamment ceux agissant au niveau du CCR5. Exemple : Maraviroc

Le traitement a pour objectif de bloquer la multiplication virale permettant de supprimer la CV plasmatique, restaurer l'immunité, améliorer la qualité de vie et réduire la survenue des infections opportunistes et la mortalité. Il repose sur la combinaison d'au moins 3 molécules de classes différentes (trithérapie) dont les principaux schémas thérapeutiques rencontrés en Afrique sont:

- 2 INTI + 1 INNTI,
- 2 INTI + 1 IP
- 1 INTI + 1 INNTI + 1 IP.

10. PREVENTION DU VIH

La clé de la prévention réside dans l'identification des modes de transmission. La prévention de la propagation du VIH repose essentiellement sur l'éducation et la sensibilisation afin que la population connaisse et évite les situations qui comportent un risque de transmission. La transmission du VIH peut être considérablement réduite par l'abstinence, le port de préservatif, la circoncision masculine, la limitation du nombre de partenaires sexuels et en évitant les pratiques sexuelles dangereuses. Chez les toxicomanes, la transmission peut être réduite par l'utilisation de seringues et aiguilles à usage unique et dans le cadre d'un système d'échange de matériel utilisé contre du matériel stérile. En transfusion sanguine, la première façon de réduire la transmission est de sélectionner des donneurs à faible risque par une visite pré-don minutieuse et rigoureuse ; et d'appliquer un bon programme de dépistage qui soit bien adapté. Au laboratoire et dans les services de soins médicaux et chirurgicaux, la prévention se fait par l'utilisation de matériel stérile et de matériel à usage unique, par le port de blouse, de gants et par l'utilisation d'antiseptiques et de désinfectants actifs sur le virus, etc. Après une exposition aux risques de contamination par le VIH, une chimioprophylaxie avec les antirétroviraux (ARV) est recommandée dans les six (6) heures qui suivent l'exposition.

Dans le cadre de la prévention de la transmission mère-enfant (PTME) du VIH, plusieurs protocoles existent ou sont en cours d'évaluation. Au Burkina Faso, le programme national de la PTME recommande (15) chez la femme infectée :

- l'administration de la Zidovudine (AZT) comprimé à la dose de 300mgx2/jour à partir de la 28^{ème} semaine de la grossesse jusqu'à l'accouchement,

- suivi de l'administration de Névirapine comprimé de 200mg en dose unique + Zidovudine/Lamivudine (AZT/3TC) comprimé de 300mg/150mg en dose unique pendant le travail
- et enfin l'administration d'AZT/3TC comprimé de 300mg/150mg x 2/jour pendant 7 jours après l'accouchement pour couvrir la queue de Névirapine qui a une durée de vie beaucoup plus longue (~ 1 semaine).

Chez l'enfant né de mère séropositive, il est recommandé d'administrer dans les 72 heures qui suivent l'accouchement, la Névirapine sirop à la dose de 2mg/kg en prise unique suivi de l'AZT sirop à la dose de 4mg/kg x 2/jour pendant 7 jours.

Des recherches sur la mise au point de vaccins anti-VIH sont en cours et nourrissent de grands espoirs même si l'efficacité de certains essais reste faible pour l'instant comme l'essai ALVAC et AIDSVAX en « prime-booste » en Thaïlande(51). Les dernières trouvailles ont démontré l'efficacité de gels microbicides vaginaux à base de Ténofovir à 1% (T-1249) dans la prévention de l'infection chez femmes lors des rapports sexuels (28). Enfin, l'utilisation des anticorps neutralisants tel que le VRC01 a montré leur capacité de bloquer in vitro la majorité des souches connues du VIH-1 (66). Cette nouvelle piste semble être prometteuse et d'avenir dans la conception et le développement de vaccin contre l'infection à VIH et de nombreuses autres maladies infectieuses.

**SIGNIFICATION DES SEROLOGIES VIH
INDETERMINEES CHEZ LES FEMMES
ENCEINTES A BOBO-DIOULASSO**

1. OBJECTIFS

1.1. Objectif Général

Contribuer au diagnostic sérologique de l'infection par le VIH chez les femmes enceintes au Burkina Faso.

1.2. Objectifs spécifiques

- Détecter les anticorps anti- virus de l'immunodéficience humaine (VIH) chez les femmes enceintes à Bobo-Dioulasso.
- Déterminer la fréquence des résultats dits « indéterminés » ou « discordants » chez les femmes enceintes à Bobo-Dioulasso par utilisation de deux (2) tests rapides de dépistage du VIH suivant l'algorithme séquentiel en vigueur dans le programme PTME au Burkina Faso.
- Déterminer la signification biologique des résultats dits « indéterminés » pour le dépistage du VIH.
- Définir une stratégie ou démarche rationnelle à suivre lors de l'annonce de ce type de résultat aux femmes enceintes.

2. MATERIEL ET METHODES

2.1. Type d'étude, période et durée de l'étude

La présente étude est une étude de type transversale qui s'est déroulée sur trois (3) ans de janvier 2005 à décembre 2007.

2.2. Cadre de l'étude

L'étude a été réalisée dans l'ensemble des 18 centres de santé et de promotion sociale (CSPS) urbains de la ville de Bobo-Dioulasso et au laboratoire de virologie du Centre MURAZ (CM). Le « counseling » et le dépistage du VIH ont été réalisés dans les différents CSPS. La coordination de l'étude a été assurée par l'équipe du Centre MURAZ. Le laboratoire de Virologie du CM a servi à la réalisation des tests complémentaires (ELISA et PCR).

2.2.1. Centres de Santé et de Promotion Sociale urbains

Les CSPS constituent les 1^{ers} niveaux de soins (1^{ers} échelons) dans le système sanitaire du Burkina Faso. Ils dépendent administrativement des districts sanitaires qui, eux, relèvent des directions régionales de santé. Les structures de santé de la ville de Bobo-Dioulasso font partie de la région sanitaire des Haut-Bassins qui compte maintenant six (6) districts dont deux (2) sont basés à Bobo-Dioulasso. Ce sont les districts sanitaires de DO (ex-district 22) et de DAFRA (ex-district 15).

2.2.2. Laboratoire de Virologie du Centre MURAZ

Créé en 1939 par le médecin colonel français Gaston MURAZ pour promouvoir la lutte contre les grandes endémies et particulièrement la maladie du sommeil qui constituait à l'époque un grave problème de santé publique en Afrique Occidentale, le Centre MURAZ fût intégré à l'OCCGE (Organisation de Coordination et Coopération pour la lutte contre les Grandes Endémies) en 1960. Après la dissolution de cette dernière en 2000, le Centre fût rétrocédé à l'Etat Burkinabé et fût érigé en 2001, en Etablissement Public de l'Etat à caractère Administratif (EPA) sous la tutelle technique du Ministère de la Santé. Devenu **Etablissement Public de Santé (EPS)** depuis 2006, le Centre MURAZ a pour mission la recherche en santé, la formation et l'appui/expertise. Il constitue aujourd'hui une référence tant au niveau national que sous-régional et international en matière d'analyses biomédicales. Son laboratoire de Virologie est équipé d'un plateau technique permettant de réaliser : (i) le diagnostic indirect par la recherche d'anticorps des virus ; (ii) le diagnostic direct par la

recherche d'acide nucléique (ADN ou ARN) virale par des techniques de biologie moléculaire (PCR ou RT-PCR).

2.3. Population d'étude

Notre population d'étude était constituée de 44 653 femmes enceintes venant en consultation prénatale (CPN) dans les CSPS urbains (n=18) de la ville de Bobo-Dioulasso. Ces femmes ont été dépistées pour le VIH dans la perspective de les inclure dans un essai clinique de PTME (essai OMS/ANRS 1289/12178 Kesho-Bora). Kesho-Bora signifie « *lendemain meilleur* » en swahili. Il s'agit d'un essai multicentrique qui s'est déroulé dans trois (3) pays africains dont le Burkina Faso à travers son site de Bobo-Dioulasso. Cet essai a évalué l'impact d'une trithérapie antirétrovirale chez les femmes infectés par le VIH-1 pendant la grossesse et au cours de l'allaitement.

Les critères de réalisation du test de dépistage et d'inclusion dans la présente étude étaient : (i) être une femme enceinte (quelque soit l'âge de la grossesse), (ii) fréquenter les structures de santé de la ville de Bobo-Dioulasso, (iii) accepter le test VIH et donner son consentement éclairé, (iv) ne pas être connu infecté par le VIH avant le présent test dépistage, (v) être naïves de tout traitement ARV.

Les femmes éligibles pour le dépistage ont été testées directement sur les différents sites, suivant l'algorithme national en vigueur au Burkina Faso pour la PTME qui utilise la combinaison de deux tests VIH selon une stratégie séquentielle.

2.4. Matériel et réactifs utilisés

2.4.1. Matériel et équipements de laboratoire

-Matériel de prélèvement : Tubes avec EDTA ou tubes sans anticoagulant, aiguilles vacutainer ou seringues, tampon d'alcool à 70°, eau de javel à 12°, portoirs ;

-Matériel de conservation : cryotubes de 2ml, cryoboîtes 10x10 ;

-Petits matériel de laboratoire : Micropipettes (10-1000µl), pipettes pasteur stériles, pipettes graduées, propipette, embouts de 100-1000µl, éprouvettes graduées, conteneurs de déchets contaminés, cuves en polypropylène, papiers absorbant, eau de qualité biologie moléculaire, eau distillée ;

-Equipements : Hottes de protection, centrifugeuses, microcentrifugeuses, réfrigérateurs +4°C, congélateurs -20°C et -80°C, incubateur de microplaque thermostaté à 37°C ± 1°C.

laveur automatique de microplaque, lecteur de microplaque ; machine PCR en temps réel (ABI7000, Applied Biosystems).

2.4.2. Réactifs

- Test Determine™ HIV 1/2 (Laboratoires Abbott, Wiesbaden, Allemagne).
- Kit Genie II® HIV-1/HIV-2 (Laboratoires Bio-Rad, Marnes-La-Coquette, France)
- Kit ImmunoComb II® HIV 1&2 BiSpot HIV (Laboratoires Orgenics, Yavne, Israel)
- Tests ELISA de 4^{ème} génération Murex® HIV Ag/Ab (Laboratoires Abbott, Dartford Kent, UK)
- Tests ELISA de 4^{ème} génération Vironostika® HIV Uni-Form II Ag/Ab (Laboratoires BioMérieux, Boxtel, The Netherlands)
- Kit Generic HIV Charge Virale® (Laboratoires Biocentric, Bandol, France)
- QIAamp Viral RNA Mini kit (Laboratoires Qiagen, Courtaboeuf, France).

2.5. Prélèvements, transport, et conservation des échantillons

Après sensibilisation des femmes sur la PTME et les tests de dépistage du VIH à travers des causeries éducatives de groupe animées par les agents de santé, chaque femme a été reçue en conseil pré-test individuel.

Cinq millilitres (5 ml) de sang total ont été prélevés chez chaque femme ayant donné son consentement pour la réalisation du test de dépistage VIH. Le prélèvement a été réalisé dans un tube avec EDTA ou sans anticoagulant (tube sec) par ponction veineuse à la face antérieure de l'avant bras au niveau du pli du coude après avoir placé un garrot suivi de l'asepsie à l'aide d'un tampon d'alcool à 70°. Toutes les femmes ont été prélevées une seule fois dans le cadre de notre étude à l'exception de celles qui avaient des résultats positifs ou indéterminés. Un second prélèvement a été effectué chez ces dernières pour confirmer le résultat afin d'exclure les erreurs d'étiquetage, de technique, etc.

Après la réalisation du test de dépistage, un échantillon de sérum ou de plasma de chaque femme ayant un résultat discordant (c'est-à-dire 1^{er} TR positif et 2^{ème} TR négatif) a été envoyé au laboratoire de Virologie du Centre MURAZ dans des glacières isothermiques contenant des conservateurs de froid (ice box). Ces échantillons ont été conservés à -20°C jusqu'à la réalisation de tests complémentaires (ELISA ou PCR ARN VIH-1).

2.6. Analyses virologiques des échantillons

2.6.1. Algorithme de dépistage et des tests complémentaires utilisés

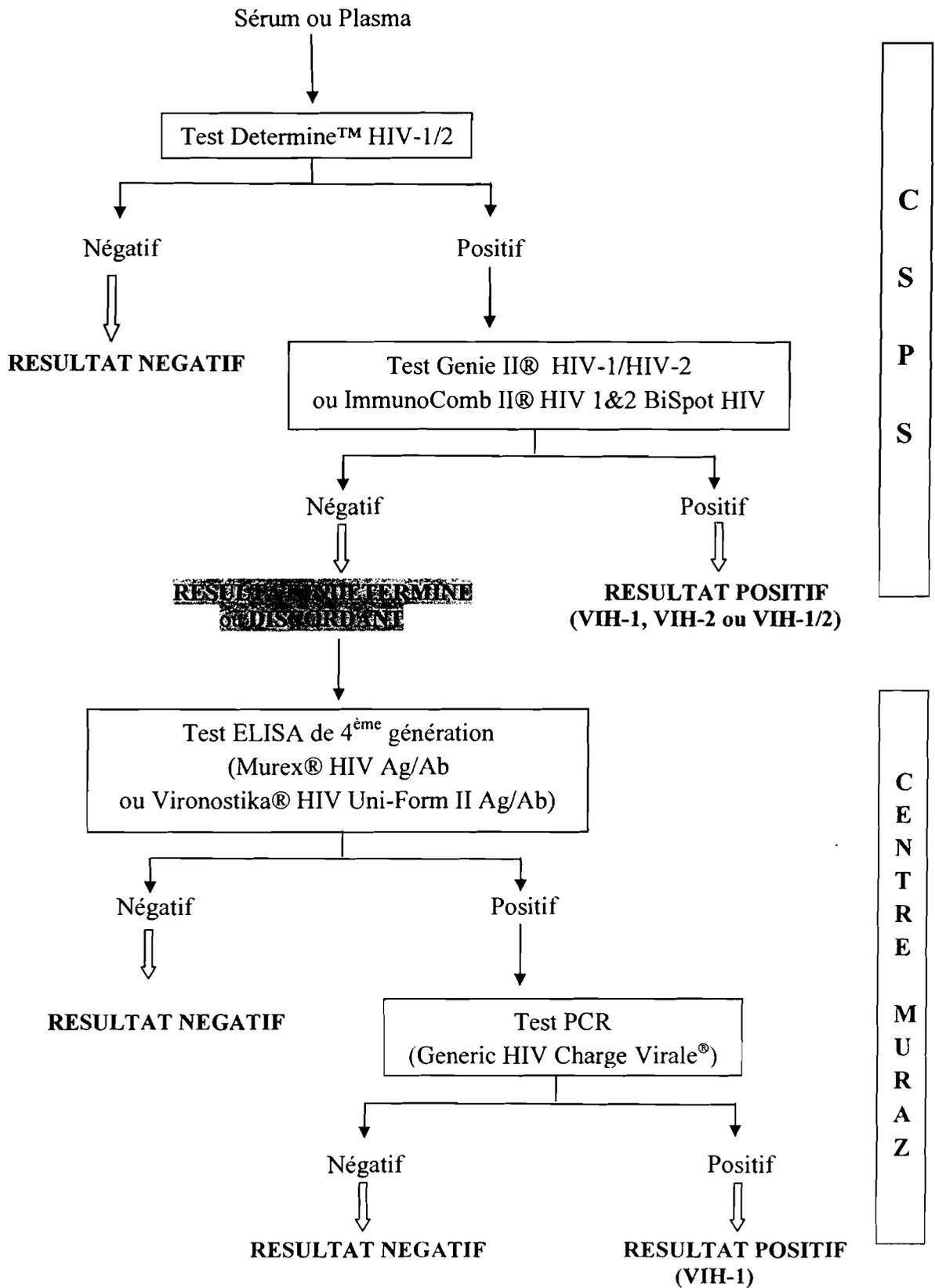


Figure 5. Stratégie diagnostique utilisée dans notre étude

2.6.2. Tests sérologiques de dépistage réalisés dans les sites périphériques

Après prélèvement des femmes désirant connaître leur statut de sérologie VIH, les tests de dépistage ont été réalisés directement au niveau des centres de santé sur le sérum ou plasma frais. Les prélèvements ont été testés conformément à l'algorithme de dépistage en vigueur chez les femmes enceintes au Burkina Faso qui utilise la stratégie II de l'OMS combinant deux tests suivant un algorithme séquentiel (cf. figure 5). En effet, tous les échantillons ont été testés en 1^{ère} intention par le test Determine™ HIV1/2 (Laboratoires Abbott, Wiesbaden, Allemagne) qui est un test rapide (TR) de type immunochromatographique (cf. son principe ci-dessous, figure 6). Les échantillons non réactifs ont été considérés comme « négatifs » et les résultats ont été rendus aux femmes comme tels.

Ceux qui ont été réactifs au 1^{er} test, ont été ensuite testés par le test Genie II® HIV-1/HIV-2 (BIORAD) basé sur le principe de l'immunofiltration (cf. son principe ci-dessous, figure 7) ou le test ImmunoComb II® HIV 1&2 BiSpot HIV (ORGENICS) utilisant le principe de l'immunodot (cf. son principe ci-dessous, figure 8). Si ce 2^{ème} test était réactif, le résultat était considéré comme « positif » et rendu comme tel à la femme lors du conseil post-test.

En cas de discordance entre les deux tests sur deux prélèvements différents, le résultat est considéré « indéterminé » et les échantillons correspondant étaient envoyés au laboratoire de Virologie du Centre MURAZ en vue de réaliser des tests complémentaires (ELISA et PCR ARN VIH-1) pour déterminer le statut de la femme. L'utilisation de l'un ou l'autre des deux (2) tests de discrimination (Genie II HIV-1/HIV-2 ou ImmunoComb II HIV-1&2 BiSpot) était fonction de leur disponibilité en stock.

Tous les tests rapides ont été réalisés par le personnel de santé (techniciens de laboratoire, sages-femmes, infirmiers/infirmières, filles/garçons de salle, auxiliaires de santé, etc.) dans les différentes structures périphériques de santé. Avant de démarrer l'étude, tout le personnel médical et paramédical a été formé pour la réalisation des tests rapides par le personnel technique du laboratoire de référence (laboratoire de virologie du Centre MURAZ). Aussi, un système de contrôle de qualité a été instauré pour suivre et garantir le respect des procédures de prélèvement, de réalisation des tests de dépistage et de la chaîne de froid. Tous les tests ont été réalisés et interprétés suivant les instructions et spécifications techniques du fabricant. Le résultat du test était communiqué à la femme dans un délai maximum de 48 heures avec conseil post-test. Les femmes dont les résultats étaient positifs ont été référées à un des sites de suivi pour la confirmation de la sérologie sur un 2^{ème} prélèvement en vue de les inclure dans l'essai Kesho-Bora. Au cours des visites préparatoires ou visites de pré-inclusion, elles ont reçues des informations sur l'essai Kesho Bora. Celles qui étaient éligibles et consentantes

ont été incluses et prises en charge suivant le protocole de cette étude tandis que celles qui ne remplissaient pas les critères de l'essai ont été prises en charge conformément au protocole du programme national PTME du point de vue médical et thérapeutique. Chacune d'elles a reçu des conseils nutritionnels pour l'alimentation de leurs enfants.

Par ailleurs, pour des raisons éthiques, toutes les femmes ayant des résultats indéterminés ont reçu au même titre que celles dépistées VIH positives, 200mg de névirapine comprimé pendant le travail et une dose unique de névirapine sirop à été administrée à leurs enfants dans les 72 heures qui ont suivi l'accouchement.

a) *Test Determine™ HIV-1/2*

C'est un test immunochromatographique pour la détection qualitative des anticorps anti-VIH-1 et anti-VIH-2. Après dépôt du sérum, du plasma ou du sang total au niveau de la zone de dépôt de l'échantillon, il migre jusqu'à la zone de dépôt du conjugué où il se reconstitue et se mélange avec le conjugué colloïde de sélénium-antigène. L'ensemble de ce mélange continue de migrer sur la phase solide jusqu'aux antigènes recombinants immobilisés et aux peptides synthétiques au niveau de la « fenêtre-patient » :

- Si les anticorps anti-VIH-1 et/ou anti-VIH-2 sont présents dans l'échantillon, ils se lient à l'antigène du conjugué antigène-colloïde de sélénium et à l'antigène de la fenêtre-patient en formant une ligne rouge.
- Par contre, si les anticorps anti-VIH-1 et/ou anti-VIH-2 sont absents, le conjugué antigène-colloïde de sélénium traverse la fenêtre-patient sans former de ligne rouge.

Dans les deux (2) cas (présence ou absence d'Ac anti-VIH), la validité du test est confirmée par l'apparition d'une ligne rouge au niveau de la « fenêtre contrôle ».

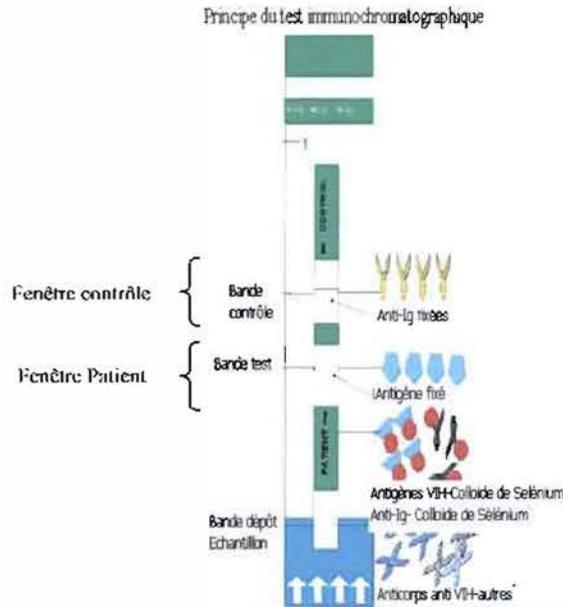


Figure 6. Bandelette de test Determine™ HIV1/2

b) Test Genie II® HIV-1/HIV-2

C'est un test immunoenzymatique de double reconnaissance qui est basé sur la détection qualitative et spécifique des anticorps anti-VIH-1 et anti-VIH-2 par des antigènes. Il utilise à la fois l'immunochromatographie et l'immunoconcentration.

Après dépôt de l'échantillon dans le puits A, les anticorps éventuellement présents se fixent spécifiquement aux antigènes VIH biotinylés et migrent le long de la membrane chromatographique jusqu'au puits B qui est le puits de réaction. Là, les complexes antigènes-anticorps se lient aux antigènes VIH immobilisés au cours d'une étape de double reconnaissance. Le complexe résultant réagit avec un conjugué streptavidine-phosphatase alcaline et l'addition d'un substrat chromogénique permet la visualisation des résultats sous forme d'un spot gris-bleu. Enfin, l'addition d'une solution d'arrêt termine la réaction. L'apparition de 2 ou 3 spots dans le puits B indique la présence d'anticorps anti-VIH. Dans le cas d'un résultat négatif, seul le spot de contrôle interne est visible.

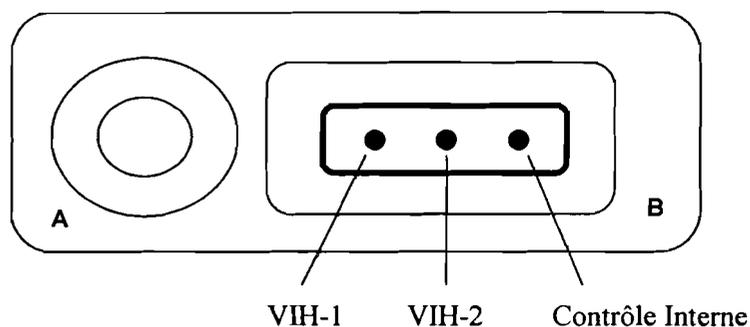


Figure 7. Représentation schématique d'un test Genie II® HIV-1/HIV-2

c) *Test ImmunoComb II® HIV-1 & 2 BiSpot*

Il s'agit d'un test immunoenzymatique indirect en phase solide. La phase solide est un peigne de 12 dents et chaque dent est sensibilisée à sa surface en trois points ou spots de réaction :

- un spot supérieur constitué d'anticorps de chèvre anti-immunoglobuline humaine (contrôle interne) ;
- un spot médian constitué de peptides synthétiques VIH-2 ;
- un spot inférieur constitué de peptides synthétiques VIH-1.

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

Après distribution des échantillons dans les puits du compartiment A et introduction des dents du peigne dans ces derniers, les anticorps anti-VIH éventuellement présents dans les échantillons se lient spécifiquement aux peptides synthétiques VIH immobilisés à la surface des dents du peigne. Parallèlement, les immunoglobulines humaines contenues dans les échantillons sont capturées au niveau du spot supérieur par les anticorps anti-Ig humaine (contrôle interne). Tout anticorps non fixé spécifiquement lors de cette étape est éliminé au cours d'une étape de lavage dans le compartiment B.

Dans les compartiments C et D, les Ig humaines fixées sur les dents du peigne sont reconnues par des anticorps de chèvres anti-humaines conjugués à la phosphatase alcaline (PA). Après une nouvelle étape de lavage dans le compartiment E, la PA réagit dans le compartiment F avec un substrat chromogénique. Cette dernière réaction entraîne la visualisation des résultats sous forme de spot gris-bleu à la surface des dents du peigne.

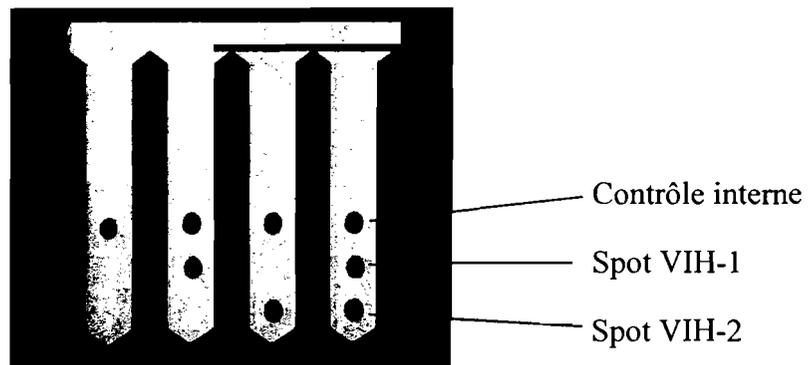


Figure 8. Photo de dents de peigne avec spots de test ImmunoComb II® HIV-1&2 BiSpot

2.6.3. Tests complémentaires réalisés au laboratoire de Virologie du Centre MURAZ

Au laboratoire de Virologie du Centre MURAZ, les échantillons présentant des résultats « indéterminés » (test Determine HIV-1/2 positif et test Genie II HIV-1/HIV-2 ou ImmunoComb II HIV-1&2 BiSpot négatif) ont été testés par l'utilisation de tests ELISA de 4^{ème} génération (cf. figure 5). Le kit Murex® HIV Ag/Ab (Abbott, Dartford Kent, UK) a été utilisé de 2005-2006 et le kit Vironostika® HIV Uni-Form II Ag/Ab (BioMérieux Laboratories, Boxtel, The Netherlands) en 2007. Seuls les échantillons positifs en ELISA ont été testés pour la recherche de l'ARN VIH-1 par la PCR en temps réel utilisant le kit Generic HIV Charge Virale® (Biocentric, Bandol, France) après extraction manuelle par procédure Qiagen (QIAamp Viral RNA Mini Kit, Qiagen, Courtaboeuf, France).

a) Tests Vironostika® HIV Uni-Form II Ag/Ab

Il s'agit d'un test ELISA de 4^{ème} génération qui permet de détecter à la fois les anticorps anti-VIH et aussi les antigènes VIH. Il est de type sandwich.

Les cupules de la microplaque sont recouvertes de gp160 du VIH-1, de peptide ANT70 du VIH-1, de peptide d'*env* du VIH-2 et d'anticorps anti-p24 du VIH-1. Chaque cupule contient une sphère de conjugué peroxydase de raifort (HRP) avec le même mélange anticorps/antigène. Le diluant de l'échantillon, ajouté d'abord aux cupules, dissout la sphère de conjugué. Puis l'échantillon de test ou l'échantillon de contrôle contenant des anticorps ou antigènes VIH est incubé dans les cupules.

- Si des anticorps dirigés contre le VIH-1 et/ou le VIH-2 sont présents dans l'échantillon, un complexe antigène-anticorps anti-VIH en phase solide se forme.

- Si l'antigène VIH-1 est présent dans l'échantillon, un complexe anticorps/antigène VIH-1/enzyme en phase solide se forme.

Après lavage et incubation avec le substrat TMB (tétraméthylbenzidine), une coloration se développe et vire au jaune lors de l'arrêt de la réaction par l'acide sulfurique.

- Si un anticorps anti-VIH-1, anti-VIH-2 et/ou un antigène VIH est présent dans l'échantillon, une coloration intense apparaît.
- Cependant, si l'échantillon ne contient aucun anticorps anti-VIH ni aucun antigène VIH, le test présente une absence de coloration ou une coloration très claire après addition du substrat.

b) Test Murex® HIV Ag/Ab

Il s'agit également d'un test ELISA de 4^{ème} génération de type sandwich qui permet de détecter à la fois les anticorps anti-VIH et les antigènes VIH.

Les cupules de la microplaque sont recouvertes de protéines recombinantes *env* et *pol* des VIH-1 et VIH-2, de peptide du VIH-1-O et d'anticorps monoclonaux anti-p24/p26. Ici le conjugué est constitué des mêmes antigènes-HRP et d'anticorps monoclonaux anti-p24/p26-HRP.

Après incubation de l'échantillon de test ou de l'échantillon de contrôle contenant des anticorps ou antigènes VIH dans les cupules, il se forme :

- un complexe antigène-anticorps anti-VIH en phase solide, matérialisé par l'apparition d'une coloration intense, si des anticorps dirigés contre le VIH-1 et/ou le VIH-2 sont présents dans l'échantillon.
- un complexe anticorps/antigène VIH-1/enzyme en phase solide, matérialisé par l'apparition d'une coloration intense, si l'antigène VIH-1 et/ou VIH-2 sont présents dans l'échantillon.

Cependant, si l'échantillon ne contient aucun anticorps anti-VIH ni aucun antigène VIH, le test présente une absence de coloration après addition du substrat.

c) Technique PCR en temps réel

La technique de PCR utilisée est la PCR en temps réel de 2^{ème} génération développée par le groupe de travail AC11/AC12 de l'ANRS. Le kit Qiagen a été utilisé pour l'extraction et le kit Biocentric (ciblant une région conservée au niveau du gène LTR) a servi pour l'amplification-détection (52, 54, 56). Il y a donc trois (3) principales étapes que sont l'extraction, suivi de la préparation de la réaction de mix et enfin l'amplification-détection.

L'extraction a pour but d'obtenir de l'ARN pure à partir d'un échantillon biologique. Elle comporte plusieurs étapes que sont la lyse virale suivi de la précipitation des acides nucléiques. Ensuite l'ARN est capturé sur une colonne et après purification par lavage, l'ARN est récupéré par élution. L'éluât obtenu est conservé à -80°C jusqu'à utilisation. Cependant il peut être gardé à $+4^{\circ}\text{C}$ en cas d'utilisation immédiate ou à -20°C pour le court et moyen terme d'utilisation.

La réaction de mix est un mélange réactionnel constitué des éléments nécessaires pour l'amplification et la révélation de l'amplification que sont : les amorces, la sonde, l'enzyme (Taq polymérase), les dNTP, le tampon et l'eau de qualité biologique moléculaire. Le kit Biocentric est composé d'éléments prêts à l'emploi (cf. figure 9) dont 2 amorces, une sonde, une solution de mix, la Taq polymérase, d'un témoin de reproductibilité et d'un standard externe à $6,1 \times 10^6$ copies/ml.

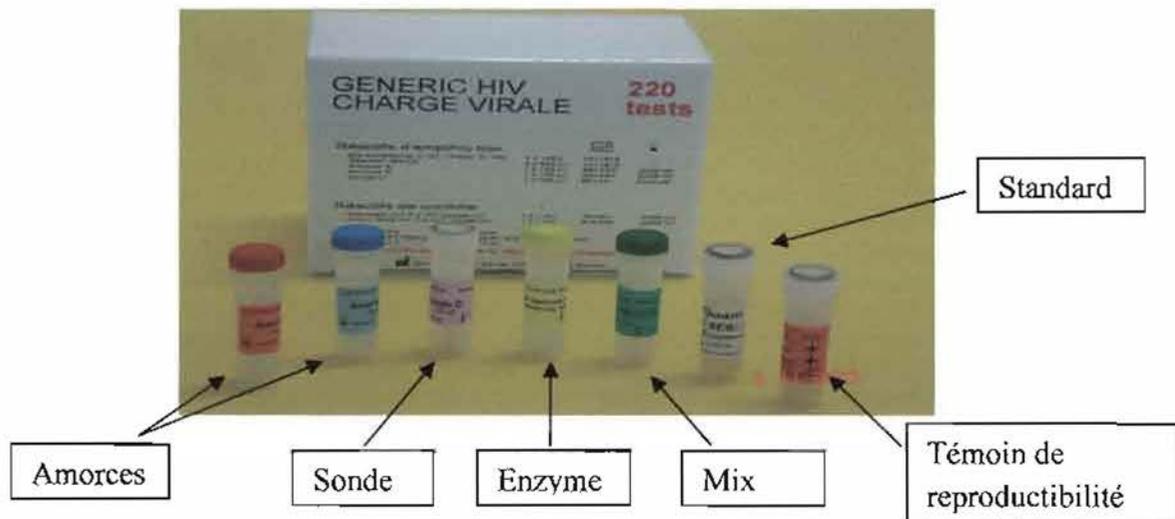


Figure 9. Photo des constituants du kit Generic HIV Charge Virale (Biocentric)

La PCR en temps réel est basée sur le principe de détection de signal fluorescent au fur et à mesure des cycles de PCR. La chimie utilisée ici est une sonde d'hydrolyse ayant à ses extrémités un quencher en 3' et un reporter en 5' qui émet un signal fluorescent après hydrolyse par l'activité 5' exonucléasique de la Taq polymérase en présence de la cible.

L'amplification se déroule en 50 cycles de PCR. Chaque cycle comporte trois étapes que sont la dénaturation, l'hybridation et la polymérisation (élongation). L'appareil utilisé pour l'amplification-détection est un ABI Prism7000 (Applied Biosystems) ayant les avantages d'un système de PCR en temps réel ouvert (cf. figure 10).



Figure 10. Photo d'un ABI 7000 (Applied Biosystems) et son système informatique

Après dépôt des échantillons ($10\mu\text{l}$) dans les puits contenant le mélange réactionnel ($15\mu\text{l}$), la microplaque est introduite dans la machine programmée à cet effet suivant un cycle thermique bien défini (cf. figure 11). Le volume réactionnel total est de $25\mu\text{l}$. L'ensemble des cycles constitue un run qui est composé de plusieurs étapes que sont :

- Etape 1 (rétrotranscription, RT) : 48°C pendant 30 mn
- Etape 2 (dénaturation initiale) : 95°C pendant 10 mn
- Etape 3 (dénaturation, hybridation ou annealing, élongation ou polymérisation) : 50 cycles (95°C pendant 15 secondes, 60°C pendant 1 mn)

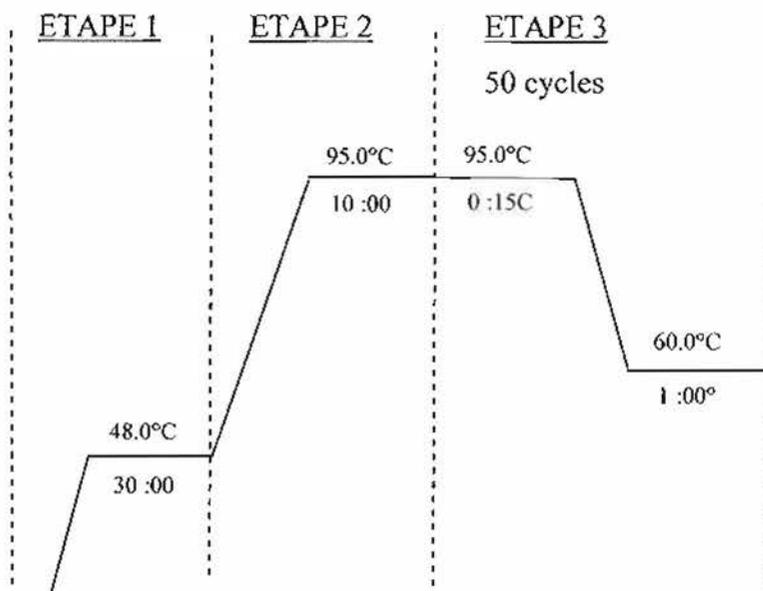


Figure 11. Programme thermique de la PCR en temps réel

A la fin du run, les résultats sont analysés à partir de la droite d'étalonnage logarithmique obtenu avec un standard externe.

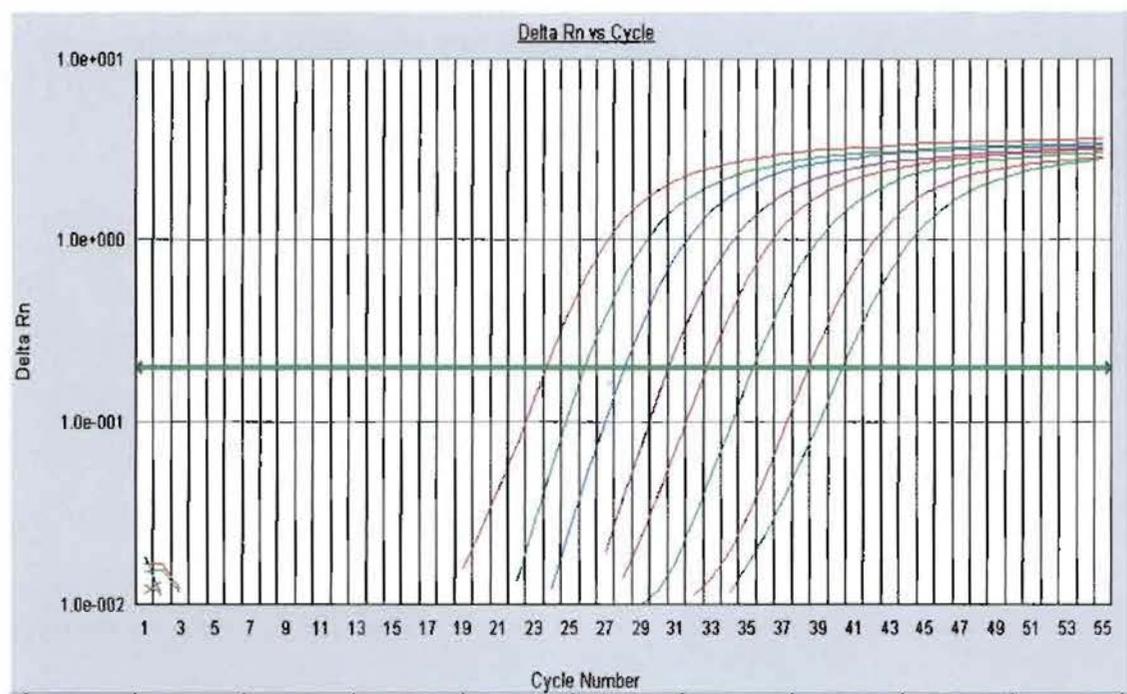


Figure 12. Plots d'amplification obtenus pour les différentes dilutions de standard externe (intensité de fluorescence en fonction du nombre de cycles)

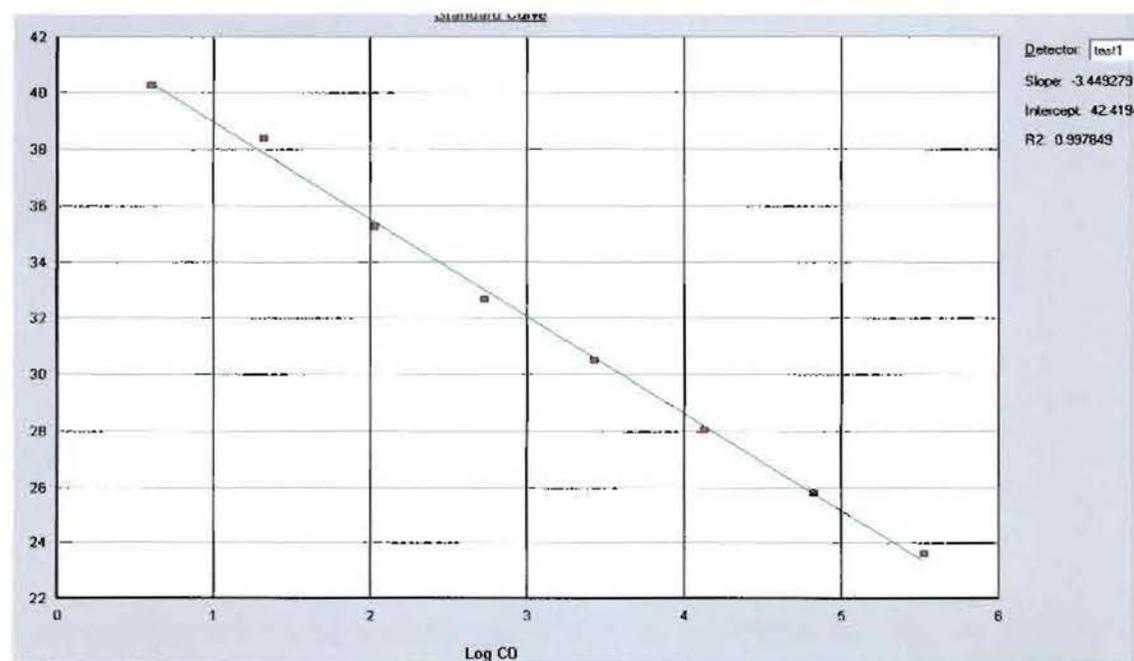


Figure 13. Droite d'étalonnage obtenue par dilutions du standard externe (nombre de copies d'ARN en log en fonction du nombre de cycles).

2.7. Analyses statistiques des données

Les données collectées ont été analysées à l'aide du logiciel EPI Info version 6.0 (Center for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA). La prévalence des résultats VIH indéterminés a été calculée en pourcentage avec un intervalle de confiance à 95%. Le test de Chi carré de Pearson a été utilisé pour la comparaison des résultats en fonction de la période de l'étude avec la valeur $p < 0,05$ considérée comme significative.

Le traitement de texte a été fait par le logiciel Word 2007. Cependant les tableaux et graphiques ont été obtenus grâce au logiciel Excel 2007.

2.8. Considérations éthiques

De façon générale, l'essai Kesho-Bora a été réalisé après l'accord du comité d'éthique nationale du Ministère de la Santé et du comité d'éthique institutionnel du Centre MURAZ.

Tous les prélèvements ont été réalisés avec l'accord de la femme matérialisé par la signature d'une fiche de consentement pour la réalisation du test de dépistage VIH. Toutes les femmes ont bénéficié d'un conseil pré-test et d'un conseil post-test pendant la remise des résultats.

L'anonymat était garanti par des numéros d'identification conçu à cet effet. Seuls ces numéros figuraient sur les documents de l'essai. Ensuite tous les documents de l'étude étaient enfermés dans une armoire à clef gardée dans une salle également fermée à clef. Les documents et informations recueillies étaient rigoureusement gardés sous le sceau du secret professionnel. L'accessibilité et l'exploitation des données des documents tenus sous secret professionnel aux sites de l'étude n'étaient possible qu'au personnel ayant une autorisation d'accès.

Toutes les femmes dépistées VIH positives et leurs enfants ont bénéficié d'une prise en charge médicale (suivant les recommandations du programme national PTME ou suivant le protocole de l'essai Kesho-Bora décrit ci-dessus), d'une prise en charge psychosociale et d'une prise en charge nutritionnelle. Après la période de l'essai, toutes les femmes infectées par le VIH et suivies au niveau des sites de l'étude ont été référées aux différentes structures de prise en charge de PvVIH pour la poursuite de leur prise en charge.

3. RESULTATS

Au total, 51.983 femmes enceintes ont été reçues en consultation prénatale dans les structures urbaines de santé de la ville de Bobo-Dioulasso entre 2005 et 2007. Parmi lesquelles 44.653 ont accepté le test de dépistage VIH et ont été prélevées et testées (soit un total de 85,9% d'acceptabilité du test de dépistage VIH). Le nombre de tests réalisés était croissant dans le temps avec $n_1=12.592$ en 2005, $n_2=15.725$ en 2006 et $n_3=16.336$ en 2007.

3.1. Caractéristiques de la population d'étude

3.1.1. Répartition de la population d'étude en fonction de l'âge

Comme le montre la figure 14, la population d'étude était constituée majoritairement des sujets jeunes. En effet, plus de 93% des femmes avaient un âge compris entre 15 et 30 ans. La moyenne d'âge était de $24,6 \pm 6,1$ ans avec des extrêmes de 12 et 55 ans.

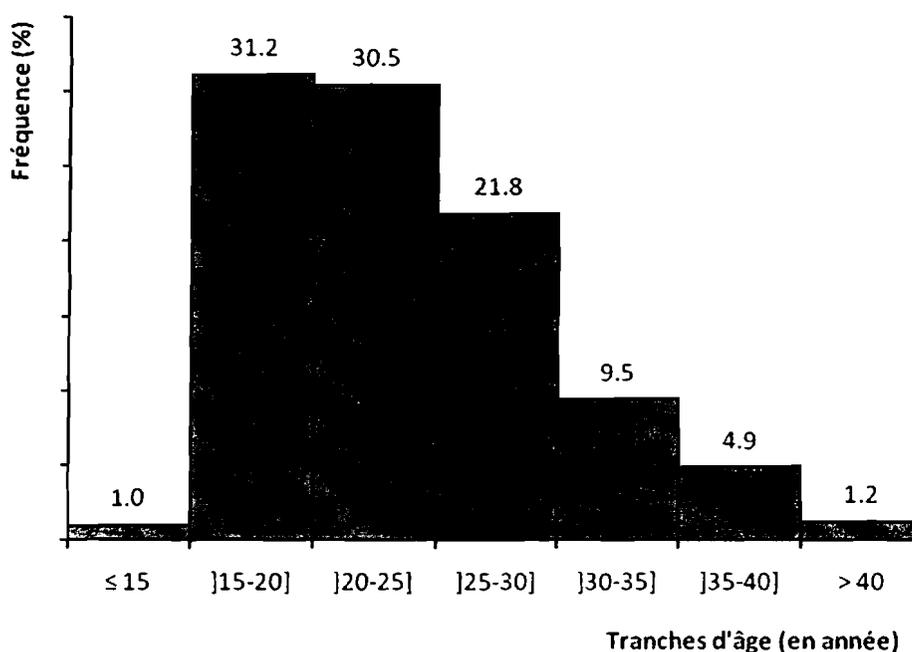


Figure 14. Répartition des femmes enceintes dépistées pour le VIH en fonction de l'âge

3.1.2. Répartition de la population d'étude en fonction du statut matrimonial

La figure 15 donne la répartition des femmes enceintes dépistées pour le VIH en fonction de leur situation matrimoniale. La grande majorité des femmes enceintes testées étaient mariées ou vivaient en concubinage (88%). Seulement 12% d'entre elles vivaient seules (célibataires, divorcées, séparées ou veuves).

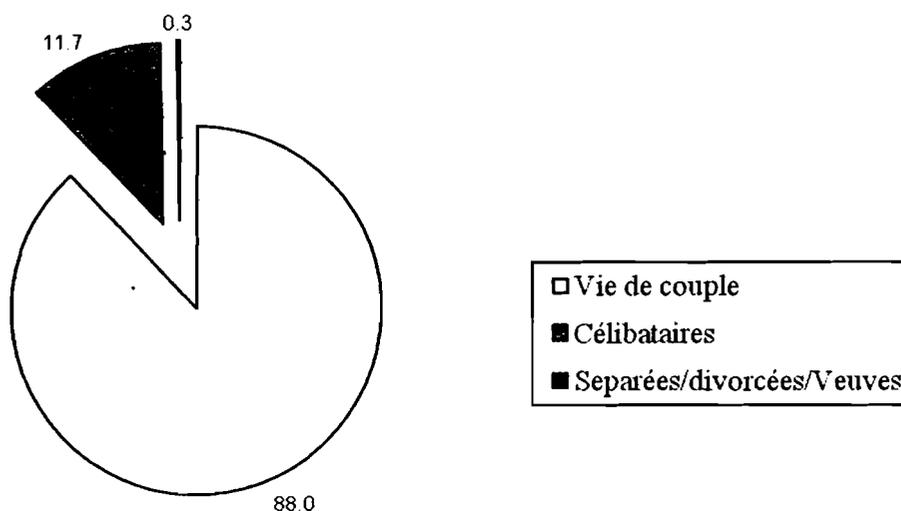


Figure 15. Répartition en fonction du statut matrimonial des femmes enceintes dépistées pour le VIH

3.1.3. Répartition de la population d'étude selon le nombre de grossesses

Comme le montre la figure ci-dessous, les femmes qui étaient à leur toute première grossesse, étaient les plus nombreuses (31,3%), suivies respectivement de celles qui étaient à la deuxième (23,7%) et à la troisième grossesse (15,5%). La gestité moyenne était de $2,86 \pm 0,02$ grossesses.

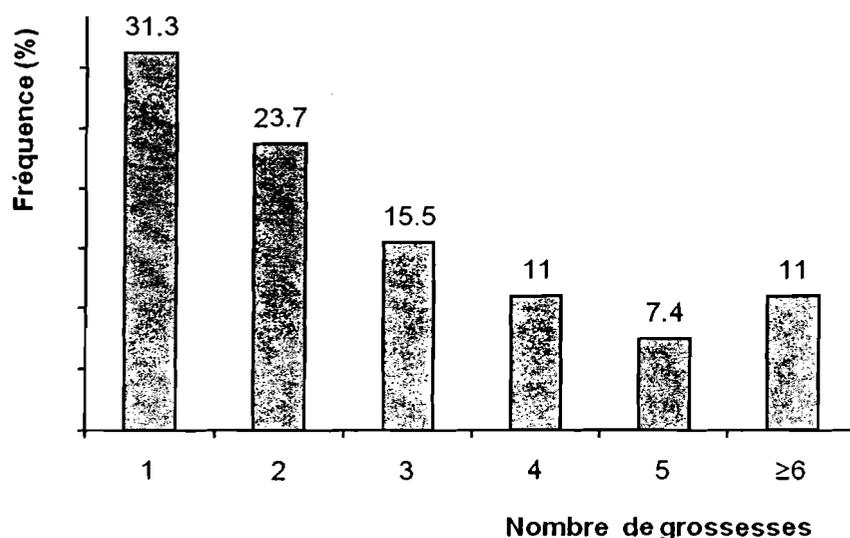


Figure 16. Répartition des femmes enceintes dépistées pour le VIH en fonction de la gestité

Sur l'ensemble des grossesses antérieures, 84,8% étaient arrivées à terme contre 15,2% d'avortements. Enfin, parmi les grossesses à terme, 97,0% étaient des naissances vivantes contre 3,0% de mort-nés.

3.2. Dépistage sérologique de l'infection à VIH par utilisation des tests rapides chez les femmes enceintes à Bobo-Dioulasso

Le tableau ci-dessous représente l'ensemble des résultats de dépistage de l'infection à VIH chez les femmes enceintes par utilisation des tests rapides suivant un algorithme séquentiel dans le cadre de la PTME de 2005 à 2007 à Bobo-Dioulasso.

Tableau II. Résultats du dépistage sérologique VIH par utilisation des tests rapides suivant un algorithme séquentiel chez les femmes enceintes à Bobo-Dioulasso, 2005-2007.

	Année 2005		Année 2006		Année 2007		Total		P
	N	(%)	N	(%)	N	(%)	N	(%)	
Total testé	12 592	(100)	15 725	(100)	16 336	(100)	44 653	(100)	
Négatifs	11 886	(94,39)	14 889	(94,68)	15 378	(94,14)	42 153	(94,40)	
Indéterminés	152	(1,21)	213	(1,35)	232	(1,42)	597	(1,34)	0,29
Total des Positifs	554	(4,40)	623	(3,96)	726	(4,44)	1903	(4,26)	0,07
VIH-1 positifs	519	(4,12)	576	(3,66)	681	(4,17)	1776	(3,98)	0,04
VIH-2 positifs	19	(0,15)	22	(0,14)	17	(0,10)	58	(0,13)	0,50
VIH-1+2 positifs	16	(0,13)	25	(0,16)	28	(0,17)	69	(0,15)	0,63

On observe une augmentation graduelle du nombre de dépistage au fil des années avec 28,2%, 35,2 et 36,6% des tests réalisés respectivement en 2005, 2006 et 2007.

Le tableau II montre que la prévalence globale du VIH était de 4,3% (IC 95% = [4,1-4,4]) chez les femmes enceintes de la ville de Bobo-Dioulasso. Cette prévalence n'était pas statistiquement différente au cours des trois (3) années d'études (p=0,07). Cependant la prévalence du VIH de type 1 (VIH-1) semblait statistiquement différente d'une année à l'autre (p=0,04), avec une légère diminution en 2006. La prévalence de l'infection à VIH-2 et celle des infections doubles à VIH-1 et VIH-2 étaient d'environ 0,1% chacune, sans différence statistique selon les années (respectivement p=0,50 et p=0,63).

Les mono-infections VIH-1 représentaient 93,3% de l'ensemble des femmes infectées tandis que les mono-infections VIH-2 et les doubles infections à VIH-1+2 représentaient respectivement 3,1% et 3,6% des infections VIH.

Enfin, ce tableau montre que la prévalence globale des résultats indéterminés chez les femmes enceintes par utilisation des tests rapide de dépistage VIH était de 1,3% IC 95% = [1,2-1,4]). Il n'avait pas de différence statistiquement significative suivant les années d'étude (p=0,29).

3.3. Tests ELISA réalisés sur les échantillons indéterminés par TR

Le tableau ci-dessous représente les résultats des ELISA obtenus sur les échantillons trouvés indéterminés par l'emploi des deux TR.

Il faut noter que sur les 597 échantillons testés indéterminés par les TR, seuls 367 (soit 61,5%) ont été testés par ELISA. Le test Vironostika a été utilisé de 2005-2006 tandis que le test Murex a été utilisé en 2007 (en fonction des disponibilités en stock).

Tableau III. Résultats obtenus par ELISA sur les échantillons indéterminés

Test ELISA	Total testé	Négatifs (%)	Positifs (%)
Vironostika® HIV Uni-Form II Ag/Ab	228	220 (96,5)	8 (3,5)
Murex® HIV Ag/Ab	139	132 (95,0)	7 (5,0)
Total	367	352 (95,9)	15 (4,1)

Le tableau III montre clairement qu'environ 96% (IC 95% = [93,5-97,6]) des échantillons trouvés indéterminés par l'emploi des tests rapides étaient négatifs par l'utilisation des tests ELISA. Seuls 4,1% (IC 95% = [2,4-6,5]) des échantillons étaient positifs.

En terme de résultat, nous n'avons pas noté de différence statistiquement significative ($p=0,47$) en fonction de l'ELISA utilisée (Vironostika® HIV Uni-Form II Ag/Ab vs. Murex® HIV Ag/Ab).

3.4. Tests PCR réalisés sur les échantillons positifs en ELISA

Le tableau ci-dessous représente les résultats des tests PCR effectués sur les échantillons testés positifs par ELISA. Il montre que l'ensemble des échantillons positifs en ELISA et testés par PCR (11 sur 15) était indétectable pour la détection/quantification de l'ARN du VIH-1 dans le plasma ou sérum, donc négatif pour le VIH-1.

Ce tableau indique que le ratio (densité optique / valeur seuil) des échantillons testés par ELISA variait de 1,04 à 13,66. A l'exception de deux échantillons, la grande majorité de ceux-ci avait un ratio faible (~1).

Tableau IV. Résultats par PCR ARN VIH-1 des échantillons positifs en ELISA

N° Echantillon	Kit utilisé	ELISA			PCR ARN
		DO	VS	Ratio DO/VS	VIH-1
5357	Vironostika	2,980	0,219	13,66	Négatif
1280	Murex	2,199	0,326	6,75	Négatif
6163	Vironostika	0,760	0,219	3,47	Négatif
3772	Vironostika	0,440	0,219	2,01	Négatif
1051	Vironostika	0,349	0,195	1,79	Négatif
2181	Murex	0,557	0,363	1,53	Négatif
1205	Murex	0,492	0,363	1,36	Négatif
2439	Murex	0,453	0,363	1,25	Négatif
0021	Murex	0,425	0,364	1,17	Négatif
0458	Murex	0,389	0,343	1,13	Négatif
0308	Murex	0,381	0,363	1,05	ND
2024	Vironostika	0,143	0,137	1,04	Négatif
0019	Murex	ND	ND	ND	ND
2087	Vironostika	ND	ND	ND	ND
2589	Vironostika	ND	ND	ND	ND

Abréviations: DO, Densité optique; VS, valeur seuil ; ND, non disponible; Négatif: <300 copies/ml pour l'ARN VIH-1.

4. DISCUSSIONS

4.1. Caractéristiques de la population d'étude

Notre population d'étude était constituée de sujets jeunes âgés de 12 à 55 ans avec une moyenne de 24,6 ans. Les âges des mères étaient représentatifs de ceux de la population générale des femmes enceintes au Burkina Faso. La moyenne d'âge des femmes dans la présente étude était identique à celle des femmes incluses dans une étude de prévalence de transmission mère-enfant de l'hépatite B à Ouagadougou, réalisée par *Sangaré et al* (55).

Plus de 93% des femmes avaient un âge compris entre 15 et 30 ans. Cette tranche d'âge correspond en effet à la période de reproduction sexuelle active chez la femme. C'est aussi la période d'intenses activités sexuelles et d'exposition aux différentes infections sexuellement transmissibles (IST) telles que le VIH/SIDA, les hépatites, l'herpès génitale, la syphilis, la gonococcie, les chlamydioses, etc.

La plupart des femmes, vivaient en couple (environ 90%). Cela peut s'expliquer par le fait que dans la société traditionnelle africaine toute femme doit être dans un foyer conjugal et faire des enfants.

Près de 70% des femmes de la présente étude étaient à moins de trois (3) grossesses. Cela témoigne une fois de plus de la grande jeunesse de femmes enceintes dans notre pays.

4.2. Prévalence de l'infection à VIH chez les femmes enceintes à Bobo-Dioulasso

Le taux de séroprévalence de l'infection à VIH dans notre population d'étude était de 4,3%. Cette prévalence est très élevée par comparaison à la prévalence nationale qui était estimée à 1,6% dans la population générale selon le rapport 2008 de l'ONUSIDA (65). Il est comparable à ceux rapporté par *Collenberg et al.* en 2006 en milieu rural à Nouna (3,6%) et à Ouagadougou (5,5%) (14). Cependant, ce taux est inférieur à ceux rapportés par *Kania et al.* en 2003 (26) et *Pignatelli et al.* en 2004 (47) qui avaient trouvé respectivement 9,8% chez les donneurs de sang et 10,6 chez les femmes enceintes à Ouagadougou. Nos résultats témoignent donc d'une baisse relative du taux de prévalence de l'infection à VIH chez les femmes enceintes dans notre pays mais cette prévalence reste encore importante et demande de nombreux efforts de sensibilisation et de préventions.

La prévalence des mono-infections par le VIH de type 1 (VIH-1) dans la population qui était de 3,98%, reste de loin plus élevée que les mono-infections par le VIH de type 2 (VIH-2) et les doubles-infections à la fois par le VIH-1 et le VIH-2 qui étaient respectivement de 0,13% et 0,16%. Ces résultats étaient semblables à ceux trouvés par *Pignatelli et al.* (47) chez les femmes enceintes à Ouagadougou qui étaient respectivement de 0,25% (3/1215) pour les mono-infections VIH-2 et 0,16% (2/1215) pour les co-infections VIH-1 et VIH-2. Le Burkina Faso reste donc un pays où l'épidémie de l'infection à VIH est généralisée avec une très grande prédominance du VIH de type 1 à l'instar des autres pays de la sous région Ouest Africain. Il est très probable que le Genie II® HIV-1/HIV-2 et l'ImmunoComb II® HIV-1&2 BiSpot surestiment le taux de doubles infections à VIH-1+2. Comme cela a été montré en Côte d'Ivoire (Rouet et al, 2004), une proportion non négligeable de co-infections correspond en fait à des mono-infections à VIH-2 seul (53). L'utilité d'un test de type Peptilav 1-2 Assay (Bio-Rad) ou d'une ELISA maison au moyen de peptides de synthèse devrait être étudiée au Burkina Faso.

4.3. Prévalence des résultats indéterminés

La prévalence de résultats de type indéterminés ou discordants par l'utilisation de deux tests rapides était peu élevée (1,3%) dans notre population d'étude et à peu près constante pendant les trois (3) années de l'étude : 1,2% en 2005, 1,3% en 2006 et 1,4% en 2007. Cette prévalence est inférieure au seuil fixé par l'OMS. En effet, l'OMS recommande les algorithmes de dépistage utilisant des combinaisons de tests rapides dont les taux de « discordance » sont inférieurs à 5% (39). C'est un des critères majeurs de qualité pour le choix des algorithmes de dépistage VIH. Par conséquent, il peut être conclu que l'algorithme utilisé dans la présente étude qui est celui adopté au niveau national pour le dépistage de l'infection à VIH chez les femmes enceintes c'est-à-dire dans le programme nationale PTME au Burkina Faso (combinaison de deux tests rapides de façon séquentielle, stratégie II de l'OMS) reste une stratégie de dépistage de très haute qualité.

Nos résultats étaient semblables avec ceux rapportés par *Rouet et al.* (53), *Mkwanazi et al.* (37) qui avaient trouvés respectivement 1,1% en 2004 en Côte d'Ivoire (où circulent majoritairement les CRF06_cpx et CRF02_AG comme au Burkina) et 1,0% en 2008 en Afrique du Sud (où le sous-type C est prédominant). Ces données étaient cependant, différentes de ceux trouvés par *Aghokeng et al.* (1) en 2009 au Cameroun qui étaient de 9,0%. Cette différence est probablement liée à la très grande diversité de souches VIH circulant dans

ce pays. En effet, tous les variants de VIH (groupes M, N, O, P, sous-types et CRF) sont rencontrés dans cette région de l’Afrique. Aussi, il est difficile de comparer des études dont la méthodologie ou modèle expérimental, la période, la population, les tests et les algorithmes de dépistage utilisés sont différents.

4.4. Signification des résultats indéterminés

Environ 96% des échantillons testés indéterminés par les tests rapides étaient négatifs par utilisation des tests ELISA. Il s’agissait donc des réactions faussement positives. *Gray et al.* (23) avaient trouvé des résultats similaires en Uganda (94,1%) dans une population d’homme circoncis et non circoncis. Une des principales raisons des faux positifs dans cette étude Ougandaise était la présence de bandes faiblement positives trouvées avec les tests Determine™ HIV1/2 mais non confirmées par les tests ELISA et le Western Blot. Les cas de réactions faussement positives obtenues par utilisation des tests rapides (2, 23, 30, 58) et par technique ELISA (12, 16, 19) pour le dépistage de l’infection à VIH ont été largement documentés dans la littérature. Les causes sont multiples et comprennent des réactions croisées (11, 19, 29, 62) avec d’autres infections (le paludisme, la schistosomiase, la tuberculose, la lèpre, les infections liées aux Human T-cell Leukemia Virus (HTLV), etc.), des phénomènes d’activations immunitaires généralisées liées à des infections concomitantes par plusieurs germes à la fois, la liaison d’Ig non spécifiques, les protéines contaminantes (fibrines, etc.) et les erreurs humaines (erreurs d’étiquetage, erreurs techniques, etc.).

Enfin 4% des échantillons « indéterminés » par les tests rapides étaient positifs par techniques ELISA mais n’ont pas été confirmés par la recherche de l’ARN VIH-1. Aucun cas de séroconversion n’a pu donc être documenté dans notre étude. Il s’agissait probablement des cas de faux positifs au regard du ratio faible (~ 1) obtenu par les tests ELISA sur les différents échantillons, des résultats de la PCR qui étaient négatifs pour l’ensemble des échantillons testés et de l’épidémiologie de l’infection à VIH dans notre pays (prévalence modérée $< 2\%$ et faible diversité des souches circulant). A côté des raisons évoquées ci-dessus, ces faux positifs peuvent également être liés aux auto-anticorps chez les femmes enceintes. Aussi, il n’est pas exclu que ces réactions positives surviennent du fait de la détection des anticorps provenant de « nouveaux virus » circulant.

Dans notre contexte où les ressources humaines et techniques sont parfois limitées, la réalisation des tests complémentaires chez les femmes enceintes présentant des résultats

indéterminés apparaît difficile à mettre en place. Le délai entre la réalisation du test de dépistage et l'accouchement est le plus souvent très court, car les femmes enceintes vont très tardivement en consultation prénatale (généralement au moment de l'accouchement). Dans les structures périphériques de santé qui sont souvent très éloignées des centres de décision, il n'est pas toujours possible d'obtenir ou de réaliser un troisième test sur les échantillons de type « indéterminés » ou discordants (c'est-à-dire test Determine™ HIV-1/2 positif mais test Genie II® HIV-1/HIV-2 ou ImmunoComb II® HIV-1&2 BiSpot négatif).

A la lumière des résultats de notre étude, nous pensons que, les conseillers ou agents de santé peuvent maintenant considérer des résultats de ce type comme des négatifs et rassurer les femmes enceintes présentant ces résultats comme non-infecté par le VIH-1, car ce sont dans leur très grande majorité des réactions faussement positives et qui peuvent d'ailleurs disparaître dans le temps. En plus, considérer ces femmes comme « séropositives » créerait un stress émotionnel et une psychose inutile chez ces dernières. Aussi, cela augmenterait non seulement le risque potentiel de stigmatisation et de rejet par leur entourage et/ou la société, mais aussi le coût additionnel inutile des ARV prophylactiques pour elles et leurs enfants. Cependant, elles peuvent être conseillées et encouragées à refaire leurs tests de dépistage au bout de deux (2) semaines ou trois (3) mois lorsque cela est possible.

4.5. Contraintes et limites de l'étude

Notre étude avait plusieurs limites. D'abord il n'était pas possible de retrouver toutes les données des tests ELISA réalisés liée au fait que certains bulletins de résultats ont été remis directement aux femmes sans être saisis dans notre base de données quand bien même tous les échantillons indéterminés par tests rapides ont été analysés par technique ELISA. Ces données ont été purement et simplement exclues des résultats ELISA et considérées comme des « données manquantes ». Il est donc possible que tous les cas de séroconversion n'aient pas pu être investigués du fait que la PCR n'a pas pu être faite sur tous les échantillons positifs en ELISA pour les raisons suivantes : données manquantes, sérums insuffisants (seulement 11 échantillons sur 15 ELISA positifs ont été testé par PCR). Cependant nous pensons que ces données manquantes n'ont pas entraîné de biais dans les résultats obtenus car les échantillons analysés étaient assez représentatifs de la population d'étude (367 sur 567 soit ~ 62%) et sans biais de sélection.

Ensuite l'intensité des bandes obtenues avec le test Determine™ HIV1/2 n'a pas été documentée. La lecture a été faite suivant les spécifications techniques et instructions du

fabricant qui considère le test « positif » lorsqu'il y a apparition d'une bande (quelque soit son intensité) dans la « fenêtre-patient ». Or, *Gray et al.* (23) ont montré que la présence des bandes faibles était très souvent synonyme de faux positifs.

Au regard du faible taux de prévalence de l'infection à VIH dans notre pays, le nombre de séroconversions est très probablement faible. Ce n'est pas le cas pour les pays où la prévalence est plus élevée comme certains pays d'Afrique Centrale et Australe où la diversité génétique du VIH est de surcroît plus importante. Par conséquent, les conclusions de notre étude ne doivent pas être extrapolées à de tels pays où le diagnostic de l'infection à VIH-1 de certaines souches appartenant aux groupes M et O peut s'avérer plus compliqué (1).

Par ailleurs, quelques uns de nos échantillons ont été stockés à +4°C pendant au maximum cinq (5) jours avant d'être envoyés au Laboratoire de Virologie du Centre MURAZ où ils ont tous été gardés à -20°C. Il est donc possible que ces conditions de conservation ne soient pas optimales pour la stabilité de l'ARN du VIH-1 ; cela a pu entraîner des faux négatifs à la PCR. Cependant, il a été rapporté par certains auteurs que les échantillons peuvent maintenir leurs concentrations en ARN du VIH-1 pendant au moins 14 jours à +4°C et environ trois (3) ans à -20°C (22, 25). Amellal et ses collègues ont également démontré qu'une semaine de stockage des échantillons de plasma à +4°C, à +22°C et à +30°C n'affectait pas considérablement et de façon significative le niveau de charge virale de l'ARN du VIH-1. Mais ils ont obtenu une réduction médiane de la concentration de l'ARN des échantillons conservés à +37°C (3, 4). Ces auteurs ont conclu que dans les pays à ressources limitées, les échantillons de plasma peuvent être gardés à ces températures pendant au moins une semaine avant de les envoyer au laboratoire de référence. Néanmoins, il est bien établi maintenant que les primo-infections chez l'adulte sont associées à des niveaux de charge virale très élevés (31). Il est donc improbable que tout l'ARN se soit dégradé au point de devenir indétectable dans les conditions de stockage dans notre étude. En plus, il n'a pas été possible d'identifier ou de déceler des cas de séroconversions durant tout le suivi de ces femmes ayant des résultats indéterminés.

Enfin, aucun test moléculaire permettant la détection du VIH-2 n'a été réalisé. Cependant la prévalence de l'infection par VIH-2 au Burkina Faso est très faible comparativement à celle du VIH-1 comme l'a montré la présente étude et d'autres études antérieures.

5. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

5.1. Conclusion

Malgré la baisse observée de la prévalence du VIH, le Burkina Faso demeure toujours en situation d'épidémie généralisée et les efforts doivent être poursuivis pour la consolidation des acquis dans la surveillance et le contrôle de l'épidémie.

La présente étude a clairement montré une prévalence de l'infection à VIH relativement élevée (~ 4%) chez les femmes enceintes à Bobo-Dioulasso. L'utilisation des tests rapides suivant un algorithme séquentiel telle que recommandée par le guide national des tests de dépistage du VIH au Burkina Faso, a donné un taux relativement faible de résultats indéterminés qui étaient en réalité des faux positifs comme l'ont démontré les tests ELISA et PCR.

On peut donc conclure que dans notre contexte où non seulement le temps entre la réalisation du test de dépistage et l'accouchement est très court, mais aussi avec des structures de santé périphériques où il n'est souvent pas possible d'obtenir ou de réaliser un troisième test pour les échantillons de type « indéterminés » ou « discordants » (c'est-à-dire test Determine™ HIV-1/2 positif mais test Genie II® HIV-1/HIV-2 ou ImmunoComb II® HIV-1&2 BiSpot négatif), les conseillers ou agents de santé peuvent rassurer les femmes enceintes présentant des résultats de ce type comme non-infectées par le VIH-1, car ce sont dans leur très grande majorité des réactions faussement positives et qui peuvent d'ailleurs disparaître dans le temps.

Considérer ces femmes comme séropositives créerait un stress émotionnel et une psychose inutiles chez ces dernières. En plus, cela augmenterait non seulement le risque potentiel de stigmatisation et de rejet par leur entourage et/ou la société, mais aussi le coût additionnel inutile des ARV prophylactiques pour elles et leurs enfants. Par conséquent les cliniciens peuvent décider de ne pas administrer les ARV prophylactiques à ces femmes porteuses vraisemblablement des anticorps non spécifiques.

Cependant, elles peuvent être conseillées et encouragées à refaire leurs tests de dépistage au bout de deux (2) semaines ou trois (3) mois lorsque cela est possible.

Ce travail de D.E.A. a fait l'objet de la publication suivante (cf. l'article intégral en Annexe):

Kania D, Fao P, Valéa D, Gouem C, Kagoné T, Hien H, Somda P, Ouédraogo P, Drabo A, Gampini S, Méda N, Diagbouga S, Van de Perre P, Rouet F, for the WHO/ANRS 1289 Kesho Bora Study Group in Burkina Faso. Low prevalence rate of indeterminate serological

human immunodeficiency virus results among pregnant women from Burkina Faso (West Africa). *Journal of Clinical Microbiology* 2010; 48: 1333- 1336.

5.2. Recommandations

Au terme de cette étude visant à déterminer la signification des résultats indéterminés par l'utilisation des tests rapides, nous formulons les recommandations suivantes:

Au Ministère de la Santé :

1. Rendre obligatoire l'évaluation et la validation, de façon périodique et régulière, des tests de dépistage VIH disponibles sur le marché Burkinabé et d'imposer l'accord d'autorisation de mise sur le marché national aux seuls tests de dépistage évalués et validés.
2. Doter les laboratoires de référence des tests complémentaires (ELISA, WB et PCR) pour leur permettre d'élucider les cas d'indéterminés obtenus avec les tests rapides.
3. Renforcer et appuyer le système de contrôle de qualité interne et externe pour le dépistage VIH aussi bien dans les sites périphériques qu'au niveau central.

Aux structures périphériques de santé de dépistage de l'infection par le VIH :

1. Limiter l'utilisation des tests de dépistage VIH aux seuls tests évalués et efficaces dans notre contexte.
2. Respecter strictement des algorithmes de dépistage évalués et adoptés au niveau national.
3. Envoyer des échantillons indéterminés pour confirmation au niveau du laboratoire de référence.

REFERENCES

REFERENCES

1. Aghokeng, A. F., E. Mpoudi-Ngole, H. Dimodi, A. Atem-Tambe, M. Tongo, C. Butel, E. Delaporte, and M. Peeters. 2009. **Inaccurate diagnosis of HIV-1 group M and O is a key challenge for ongoing universal access to antiretroviral treatment and HIV prevention in Cameroon.** *PLoS One* 4:e7702.
2. Aidoo, S., W. K. Ampofo, J. A. Brandful, S. V. Nuvor, J. K. Ansah, N. Nii-Trebi, J. S. Barnor, F. Apeagyei, T. Sata, D. Ofori-Adjei, and K. Ishikawa. 2001. **Suitability of a rapid immunochromatographic test for detection of antibodies to human immunodeficiency virus in Ghana, West Africa.** *J Clin Microbiol* 39:2572-5.
3. Amellal, B., C. Katlama, and V. Calvez. 2007. **Evaluation of the use of dried spots and of different storage conditions of plasma for HIV-1 RNA quantification.** *Hiv Medicine* 8:396-400.
4. Amellal, B., R. Murphy, A. Maiga, G. Brucker, C. Katlama, V. Calvez, and A. G. Marcelin. 2008. **Stability of HIV RNA in plasma specimens stored at different temperatures.** *Hiv Medicine* 9:790-793.
5. Augut H, C. V., Huraux J M. 1996. **Classification et diagnostic virologique.** Dans: **Lefrère J J, eds. Virus transmissibles par le sang.** Paris. *John Libbey Eurotext Méd Sci*:3-22.
6. Avettand-Fenoel, V., M. L. Chaix, S. Blanche, M. Burgard, C. Floch, K. Toure, M. C. Allemon, J. Warszawski, and C. Rouzioux. 2009. **LTR real-time PCR for HIV-1 DNA quantitation in blood cells for early diagnosis in infants born to seropositive mothers treated in HAART area (ANRS CO 01).** *J Med Virol* 81:217-23.
7. Barin, F., S. M'Boup, F. Denis, P. Kanki, J. S. Allan, T. H. Lee, and M. Essex. 1985. **Serological evidence for virus related to simian T-lymphotropic retrovirus III in residents in West Africa.** *Lancet*:1387-1389.
8. Barre-Sinoussi, F., J. C. Chermann, F. Rey, M. T. Nugeyre, S. Chamaret, J. Gruest, C. Dauguet, C. Axler-Blin, F. Vezinet-Brun, C. Rouzioux, W. Rozemaum, and L. Montagnier. 1983. **Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS).** *Science* 220:868-71.
9. Bolu, O. O., V. Allread, T. Creek, E. Stringer, F. Fornia, M. Bulterys, and N. Shaffer. 2007. **Approaches for scaling up human immunodeficiency virus testing and counseling in prevention of mother-to-child human immunodeficiency virus transmission settings in resource-limited countries.** *Am J Obstet Gynecol* 197 (3) Suppl. 1:S83-S89.
10. Bulterys, M., D. J. Jamieson, M. J. OSullivan, M. H. Cohen, R. Maupin, S. Nesheim, M. P. Webber, R. VanDyke, J. Wiener, and B. M. Branson. 2004. **Rapid HIV-1 testing during labor - A multicenter study.** *Jama J Am Med Assn* 292:219-223.
11. Celum, C. L., R. W. Coombs, M. Jones, V. Murphy, L. Fisher, C. Grant, L. Corey, T. Inui, M. H. Wener, and K. K. Holmes. 1994. **Risk factors for repeatedly reactive HIV-1 EIA and indeterminate western blots. A population-based case-control study.** *Arch Intern Med* 154:1129-37.

12. Chae, H. B., and H. W. Hann. 2007. **Baseline HBV DNA level is the most important factor associated with virologic breakthrough in chronic hepatitis B treated with lamivudine.** *World Journal of Gastroenterology* 13:4085-4090.
13. Conseil National de la Lutte contre le Sida et les Infections Sexuellement Transmissibles & Ministère de la Santé. 2005. **Algorithme de dépistage et de diagnostic de l'infection à VIH au Burkina Faso.**63p.
14. Collenberg, E., T. Ouedraogo, J. Ganame, H. Fickenscher, G. Kynast Wolf, H. Becher, B. Kouyate, H. G. Krausslich, L. Sangare, and D. M. Tebit. 2006. **Seroprevalence of six different viruses among pregnant women and blood donors in rural and urban Burkina Faso: A comparative analysis.** *J Med Virol* 78:683-692.
15. Direction de la Santé de la Famille du Burkina Faso. 2006. **Programme national de prévention de la transmission mère enfant du VIH 2006- 2010.** *Protocole National PTME*:51p.
16. Elm, J., R. Desowitz, and A. Diwan. 1998. **Serological cross-reactivities between the retroviruses HIV and HTLV-1 and the malaria parasite Plasmodium falciparum.** *P N G Med J* 41:15-22.
17. Foglia, G., G. D. Royster, K. M. Wasunna, R. Kibaya, J. A. Malia, E. K. Calero, W. Sateren, P. O. Renzullo, M. L. Robb, D. L. Birx, and N. L. Michael. 2004. **Use of rapid and conventional testing technologies for human immunodeficiency virus type 1 serologic screening in a rural Kenyan reference laboratory.** *J Clin Microbiol* 42:3850-3852.
18. Ganczak, M., and P. Barss. 2008. **Nosocomial HIV infection: epidemiology and prevention--a global perspective.** *AIDS Rev* 10:47-61.
19. Gasasira, A. F., G. Dorsey, M. R. Kanya, D. Havlir, M. Kiggundu, P. J. Rosenthal, and E. D. Charlebois. 2006. **False-positive results of enzyme immunoassays for human immunodeficiency virus in patients with uncomplicated malaria.** *J Clin Microbiol* 44:3021-4.
20. Gautier-Charpentier, L., R. OuedraogoTraore, A. Simonon, N. Meda, A. Kpozehouen, H. Dahourou, R. Soudre, P. VandePerre, and F. Barin. 2001. **Impact of human immunodeficiency virus type I subtype on HIV antibody detection in Burkina Faso.** *J Acq Immune Defic Syndr* 28:194-195.
21. Geretti, A. M. 2006. **HIV-1 subtypes: epidemiology and significance for HIV management.** *Curr Opin Infect Dis* 19:1-7.
22. Gessoni, G., P. Barin, S. Valverde, A. Giacomini, C. Di Natale, E. Orlandini, N. Arreghini, G. De Fusco, A. Frigato, M. Fezzi, F. Antico, and G. Marchiori. 2004. **Biological qualification of blood units: considerations about the effects of sample's handling and storage on stability of nucleic acids.** *Transfus Apher Sci* 30:197-203.
23. Gray, R. H., F. Makumbi, D. Serwadda, T. Lutalo, F. Nalugoda, P. Opendi, G. Kigozi, S. J. Reynolds, N. K. Sewankambo, and M. J. Wawer. 2007. **Limitations of rapid HIV-1 tests during screening for trials in Uganda: diagnostic test accuracy study.** *BMJ* 335:188-190.
24. Jennings, C., S. A. Fiscus, S. M. Crowe, A. D. Danilovic, R. J. Morack, S. Scianna, A. Cachafeiro, D. J. Brambilla, J. Schupbach, W. Stevens, R. Respass, O. Varnier, G. E. Corrigan, J. S. Gronowitz, M. A. Ussery, and J. W. Bremer. 2005. **A comparison of**

- human immunodeficiency virus (HIV-1) RNA surrogate assays to the standard HIV-1 RNA assay. *J Clin Microbiol* 43:5960-5966.**
25. Jose, M., R. Gajardo, and J. I. Jorquera. 2005. **Stability of HCV, HIV-1 and HBV nucleic acids in plasma samples under long-term storage. *Biologicals* 33:9-16.**
 26. Kania, D., L. Sangare, J. Sakande, A. Koanda, Y. K. Nebie, O. Zerbo, A. W. Combassere, I. P. Guissou, and F. Rouet. 2009. **A new strategy to improve the cost-effectiveness of human immunodeficiency virus, hepatitis B virus, hepatitis C virus, and syphilis testing of blood donations in sub-Saharan Africa: a pilot study in Burkina Faso. *Transfusion* 49:2237-40.**
 27. Kankasa, C., R. J. Carter, N. Briggs, M. Bulterys, E. Chama, E. R. Cooper, C. Costa, E. Spielman, M. Katepa-Bwalya, T. M'Soka, C. Y. Ou, and E. J. Abrams. 2009. **Routine offering of HIV testing to hospitalized pediatric patients at university teaching hospital, Lusaka, Zambia: acceptability and feasibility. *J Acquir Immune Defic Syndr* 51:202-8.**
 28. Karim, Q. A., S. S. Karim, J. A. Frohlich, A. C. Grobler, C. Baxter, L. E. Mansoor, A. B. Kharsany, S. Sibeko, K. P. Mlisana, Z. Omar, T. N. Gengiah, S. Maarschalk, N. Arulappan, M. Mlotshwa, L. Morris, and D. Taylor. **Effectiveness and Safety of Tenofovir Gel, an Antiretroviral Microbicide, for the Prevention of HIV Infection in Women. *Science*.**
 29. Kashala, O., R. Marlink, M. Ilunga, M. Diese, B. Gormus, K. Xu, P. Mukeba, K. Kasongo, and M. Essex. 1994. **Infection with human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) and human T cell lymphotropic viruses among leprosy patients and contacts: correlation between HIV-1 cross-reactivity and antibodies to lipoarabinomannan. *J Infect Dis* 169:296-304.**
 30. Klarkowski, D. B., J. M. Wazome, K. M. Lokuge, L. Shanks, C. F. Mills, and D. P. O'Brien. 2009. **The evaluation of a rapid in situ HIV confirmation test in a programme with a high failure rate of the WHO HIV two-test diagnostic algorithm. *PLoS One* 4:e4351.**
 31. Lindback, S., A. C. Karlsson, J. Mittler, A. Blaxhult, M. Carlsson, G. Briheim, A. Sonnerborg, and H. Gaines. 2000. **Viral dynamics in primary HIV-1 infection. *AIDS* 14:2283-91.**
 32. Mayhood, M. K., I. A. Afwamba, C. O. Odhiambo, E. Ndanu, N. M. Thielman, A. B. Morrissey, J. F. Shao, B. Wells Pence, and J. A. Crump. 2008. **Validation, performance under field conditions, and cost-effectiveness of Capillus HIV-1/HIV-2 and determine HIV-1/2 rapid human immunodeficiency virus antibody assays using sequential and parallel testing algorithms in Tanzania. *J Clin Microbiol* 46:3946-51.**
 33. Meda, N., L. Gautier-Charpentier, R. B. Soudre, H. Dahourou, R. Ouedraogo-Traore, A. Ouangre, A. Bambara, A. Kpozehouen, H. Sanou, D. Valea, F. Ky, M. Cartoux, F. Barin, and P. Van de Perre. 1999. **Serological diagnosis of human immunodeficiency virus in Burkina Faso: reliable, practical strategies using less expensive commercial test kits. *Bull World Health Organ* 77:731-9.**
 34. Meda, N., V. Leroy, I. Viho, P. Msellati, S. Yaro, L. Mandelbrot, C. Montcho, O. Manigart, and F. Dabis. 2002. **Field acceptability and effectiveness of the routine utilization of zidovudine to reduce mother-to-child transmission of HIV-1 in West Africa. *AIDS* 16:2323-2328.**

35. Mehta, N., S. Trzmielina, B. A. Nonyane, M. N. Eliot, R. Lin, A. S. Foulkes, K. McNeal, A. Ammann, V. Eulalievoylo, J. L. Sullivan, K. Luzuriaga, and M. Somasundaran. 2009. **Low-cost HIV-1 diagnosis and quantification in dried blood spots by real time PCR.** *PLoS One* 4:e5819.
36. Menard, D., A. Mairo, M. J. Mandeng, P. Doyemet, T. D. Koyazegbe, C. Rochigneux, and A. Talarmin. 2005. **Evaluation of rapid HIV testing strategies in under equipped laboratories in the Central African Republic.** *J Virol Methods* 126:75-80.
37. Mkwanzazi, N. B., D. Patel, M. L. Newell, N. C. Rollins, A. Coutoudis, H. M. Coovadia, and R. M. Bland. 2008. **Rapid testing may not improve uptake of HIV testing and same day results in a rural South African community: a cohort study of 12,000 women.** *PLoS One* 3:e3501.
38. Morand-Joubert L, L. J. J., Brossard Y, Vittecoq D, Barré-Sinoussi F, Brun-Vezinet F. 1996. **Les virus de l'immunodéficience humaine. Dans: Lefrère J J, eds. Virus transmissibles par le sang.** Paris. *John Libbey Eurotext Méd Sci*:105-148.
39. Organisation Mondiale de la Santé. 1997. **Recommandations concernant le choix et l'utilisation des tests de mise en évidence des anticorps anti-VIH – Version révisée.** *Relevé Epidémiologique Hebdomadaire* 72:81-88.
40. ONUSIDA/OMS. 2009. **Le point sur l'épidémie de sida (Décembre 2009).** www.unaids.org:100p.
41. World Health Organization. 2005. **Guidelines for assuring the accuracy and reliability of HIV rapid testing: Applying a quality system approach.** Available at: www.who.int/diagnosticstechnology.
42. World Health Organization. 2008. **WHO guideline review meeting to review recommendations on the diagnosis of HIV infection in infants and children: report and recommendations 20–21 November 2008.** 37p.
43. Ouedrago-Traore, R., C. Montavon, T. Sanou, N. Vidal, L. Sangare, I. Sanou, R. Soudre, S. Mboup, E. Delaporte, and M. Peeters. 2003. **CRF06-cpx is the predominant HIV-1 variant in AIDS patients from Ouagadougou, the capital city of Burkina Faso.** *AIDS* 17:441.
44. Pai, N. P., R. Barick, J. P. Tulsy, P. V. Shivkumar, D. Cohan, S. Kalantri, M. Pai, M. B. Klein, and S. Chhabra. 2008. **Impact of round-the-clock, rapid oral fluid HIV testing of women in labor in rural India.** *PLoS Med* 5:e92.
45. Pai, N. P., and M. B. Klein. 2009. **Rapid testing at labor and delivery to prevent mother-to-child HIV transmission in developing settings: issues and challenges.** *Womens Health (Lond Engl)* 5:55-62.
46. Peeters, M., M. L. Chaix, and E. Delaporte. 2008. **Genetic diversity and phylogeographic distribution of SIV: how to understand the origin of HIV.** *Med Sci (Paris)* 24:621-8.
47. Pignatelli, S., J. Simporé, V. Pietra, L. Ouedraogo, G. Conombo, N. Saleri, C. Pizzocolo, G. De Iaco, F. Tall, A. Ouiminga, G. Carosi, and F. Castelli. 2006. **Factors predicting uptake of voluntary counselling and testing in a real-life setting in a mother-and-child center in Ouagadougou, Burkina Faso.** *Trop Med Int Health* 11:350-7.

48. Plantier, J. C., M. Leoz, J. E. Dickerson, F. De Oliveira, F. Cordonnier, V. Lemeé, F. Damond, D. L. Robertson, and F. Simon. 2009. **A new human immunodeficiency virus derived from gorillas.** *Nat Med* **15**:871-2.
49. Plate, D. K., S. Wiktor, A. Demby, P. Crippen, T. Diaz, D. Plate, M. Rayfield, B. Branson, T. Granade, A. Tanuri, K. Lewis, K. Bond, R. Respass, M. Downer, T. Hearn, J. Ridderhof, T. Merlin, and G. Gershy Damet. 2007. **Evaluation and implementation of rapid HIV tests: The experience in 11 African countries.** *AIDS Res Hum Retroviruses* **23**:1491-1498.
50. Plourde, P. J., S. Mphuka, G. K. Muyinda, M. Banda, K. Sichali-Sichinga, D. Chama, and A. R. Ronald. 1998. **Accuracy and costs of rapid human immunodeficiency virus testing technologies in rural hospitals in Zambia.** *Sex Transm Dis* **25**:254-9.
51. Rerks-Ngarm, S., P. Pitisuttithum, S. Nitayaphan, J. Kaewkungwal, J. Chiu, R. Paris, N. Premisri, C. Namwat, M. de Souza, E. Adams, M. Benenson, S. Gurunathan, J. Tartaglia, J. G. McNeil, D. P. Francis, D. Stablein, D. L. Birx, S. Chunsuttiwat, C. Khamboonruang, P. Thongcharoen, M. L. Robb, N. L. Michael, P. Kunasol, and J. H. Kim. 2009. **Vaccination with ALVAC and AIDSVAX to prevent HIV-1 infection in Thailand.** *N Engl J Med* **361**:2209-20.
52. Rouet, F., M. L. Chaix, E. Nerrienet, N. Ngo-Giang-Huong, J. C. Plantier, M. Burgard, M. Peeters, F. Damond, K. D. Ekouevi, P. Msellati, L. Ferradini, S. Rukobo, V. Maréchal, N. Schvachsa, L. Wakrim, C. Rafalimanana, B. Rakotoambinina, J. P. Viard, J. M. Seigneurin, and C. Rouzioux. 2007. **Impact of HIV-1 genetic diversity on plasma HIV-1 RNA quantification: usefulness of the Agence Nationale de Recherches sur le SIDA second-generation long terminal repeat-based real-time reverse transcriptase polymerase chain reaction.** *J Acquir Immune Defic Syndr* **45**:380-388.
53. Rouet, F., D. K. Ekouevi, A. Inwoley, M. L. Chaix, M. Burgard, L. Bequet, I. Viho, V. Leroy, F. Simon, F. Dabis, and C. Rouzioux. 2004. **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* **42**:4147-53.
54. Rouet, F., V. Foulongne, J. Viljoen, K. Steegen, P. Becquart, D. Valea, S. Danaviah, M. Segondy, C. Verhofstede, and P. Van de Perre. **Comparison of the Generic HIV Viral Load assay with the Amplicor HIV-1 monitor v1.5 and Nuclisens HIV-1 EasyQ v1.2 techniques for plasma HIV-1 RNA quantitation of non-B subtypes: the Kesho Bora preparatory study.** *J Virol Methods* **163**:253-7.
55. Sangare, L., R. Sombie, A. W. Combassere, A. Kouanda, D. Kania, O. Zerbo, and J. Lankoande. 2009. **Antenatal transmission of hepatitis B virus in an area of HIV moderate prevalence, Burkina Faso.** *Bull Soc Pathol Exot* **102**:226-9.
56. Schvachsa, N., G. Turk, M. Burgard, D. Dilernia, M. Carobene, M. Pippo, M. Gomez-Carrillo, C. Rouzioux, and H. Salomon. 2007. **Examination of real-time PCR for HIV-1 RNA and DNA quantitation in patients infected with HIV-1 BF intersubtype recombinant variants.** *J Virol Methods* **140**:222-7.
57. Schwartz, S. A., and M. P. Nair. 1999. **Current concepts in human immunodeficiency virus infection and AIDS.** *Clin Diagn Lab Immunol* **6**:295-305.
58. Singer, D. E., N. Kiwanuka, D. Serwadda, F. Nalugoda, L. Hird, J. Bulken Hoover, G. Kigozi, J. A. Malia, E. K. Calero, W. Sateron, M. L. Robb, F. Wabwire Mangen, M.

- Wawer, R. H. Gray, N. Sewankambo, D. L. Birx, and N. L. Michael. 2005. **Use of stored serum from Uganda for development and evaluation of a human immunodeficiency virus type 1 testing algorithm involving multiple rapid immunoassays.** *J Clin Microbiol* **43**:5312-5315.
59. Sivapalasingam, S., S. Essajee, P. N. Nyambi, V. Itri, B. Hanna, R. Holzman, and F. Valentine. 2005. **Human immunodeficiency virus (HIV-1) reverse transcriptase activity correlates with HIV-1 RNA load: implications for resource-limited settings.** *J Clin Microbiol* **43**:3793-3796.
60. Sivapalasingam, S., U. Patel, V. Itri, M. Laverty, K. Mandaliya, F. Valentine, and S. Essajee. 2007. **A reverse transcriptase assay for early diagnosis of infant HIV infection in resource-limited settings.** *J Trop Pediatr* **53**:355-8.
61. Stevens, G., N. Rekhviashvili, L. E. Scott, R. Gonin, and W. Stevens. 2005. **Evaluation of two commercially available, inexpensive alternative assays used for assessing viral load in a cohort of human immunodeficiency virus type 1 subtype C-infected patients from South Africa.** *J Clin Microbiol* **43**:857-861.
62. Swaminathan, S., L. E. Hanna, J. C. Sundaramurthi, A. Leonard, B. Angayarkanni, A. C. Francis, S. Lakshmi, and K. Nayak. 2008. **Prevalence and pattern of cross-reacting antibodies to HIV in patients with tuberculosis.** *AIDS Res Hum Retroviruses* **24**:941-6.
63. Tebit, D. M., J. Ganame, K. Sathiandee, Y. Nagabila, B. Coulibaly, and H. G. Krausslich. 2006. **Diversity of HIV in rural Burkina Faso.** *J Acquir Immune Defic Syndr* **43**:144-152.
64. Weiss, R. A. 2001. **Gulliver's travels in HIVland.** *Nature* **410**:963-7.
65. WHO/UNAIDS/UNICEF. 2008. **Epidemiological Fact Sheet on HIV and AIDS Core data on epidemiology and response Burkina Faso 2008 Update (October 2008).** <http://www.who.int/hiv:17p>.
66. Zhou, T., I. Georgiev, X. Wu, Z. Y. Yang, K. Dai, A. Finzi, Y. Do Kwon, J. Scheid, W. Shi, L. Xu, Y. Yang, J. Zhu, M. C. Nussenzweig, J. Sodroski, L. Shapiro, G. J. Nabel, J. R. Mascola, and P. D. Kwong. **Structural Basis for Broad and Potent Neutralization of HIV-1 by Antibody VRC01.** *Science*.

ANNEXES :

Article écrit et publié

Kania D, Fao P, Valéa D, Gouem C, Kagoné T, Hien H, Somda P, Ouédraogo P, Drabo A, Gampini S, Méda N, Diagbouga S, Van de Perre P, Rouet F, for the WHO/ANRS 1289 Kesho Bora Study Group in Burkina Faso. Low prevalence rate of indeterminate serological human immunodeficiency virus results among pregnant women from Burkina Faso (West Africa). *J Clin Microbiol* 2010; 48: 1333- 1336.

Low Prevalence Rate of Indeterminate Serological Human Immunodeficiency Virus Results among Pregnant Women from Burkina Faso, West Africa[∇]

Dramane Kania,^{1,2} Paulin Fao,² Diane Valéa,^{1,2} Clarisse Gouem,² Thérèse Kagoné,¹ Hervé Hien,² Paulin Somda,² Patrice Ouédraogo,² Aly Drabo,¹ Sandrine Gampini,¹ Nicolas Méda,² Serge Diagbouga,² Philippe Van de Perre,³ and François Rouet^{1,2*} for the WHO/ANRS 1289 Kesho Bora Study Group in Burkina Faso

Laboratoire de Virologie, Centre Muraz, Bobo-Dioulasso, Burkina Faso¹; Essai Kesho Bora, Centre Muraz, Bobo-Dioulasso, Burkina Faso²; and Université Montpellier 1, EA 4205, Transmission, Pathogénèse, et Prévention de l'Infection par le VIH, and CHU Montpellier, Laboratoire de Bactériologie-Virologie, Montpellier, France³

Received 3 September 2009/Returned for modification 6 November 2009/Accepted 29 January 2010

Rapid human immunodeficiency virus (HIV) antibody tests have been adopted into national guidelines for HIV testing in many countries in sub-Saharan Africa. One goal of HIV rapid testing is to minimize the occurrence of indeterminate results. From January 2005 to December 2007, plasma (or serum) samples from pregnant women in Bobo-Dioulasso (Burkina Faso, West Africa) were screened for HIV by using two rapid tests (the Determine HIV1/2 test [Abbott] and Genie II HIV-1/HIV-2 [Bio-Rad]) through a sequential algorithm prior to enrollment of HIV-1-infected women in a prevention of mother-to-child transmission (PMTCT) trial (WHO/ANRS 1289 Kesho Bora trial). Samples exhibiting indeterminate results (Determine positive and Genie II negative) were further tested with a fourth-generation HIV enzyme immunoassay (EIA) (Murex HIV Ag/Ab combination in 2005 and 2006 and Vironostika HIV Uni-Form II Ag/Ab in 2007). If positive, they were finally assessed for HIV-1 RNA (Generic HIV-1 RNA viral load assay; Biocentric). From a total of 44,653 samples tested, 597 (1.3%) showed indeterminate results. Of these, 367 could be analyzed by EIA. Only 15 (15/367, 4.1%) samples were found EIA reactive. Of these, 11 could be tested for HIV-1 RNA. All were HIV-1 RNA negative. In our clinical practice, pregnant women with such indeterminate results are now reassured during posttest counseling that they are very unlikely to be infected with HIV-1. As a consequence, such women with indeterminate results can reliably be considered negative when urgent clinical decisions (such as providing PMTCT prophylaxis) need to be taken.

In sub-Saharan Africa, rapid testing for human immunodeficiency virus (HIV) is the most efficient and sometimes the only feasible way to quickly provide information about HIV status among adults and children ≥ 18 months of age (6, 29). In contrast to enzyme immunoassays (EIAs) and Western blot assays (WBs), HIV rapid tests are relatively cheap, easy to use, and fast to perform. Most of them do not require refrigeration, sophisticated laboratory equipment, skilled technicians, and an electricity supply. Results from serum, plasma, whole-blood, urine, or saliva samples are obtained by visual reading after a few minutes. Some of the rapid tests can distinguish HIV type 1 (HIV-1) from HIV type 2 (HIV-2). They are also accurate and reliable as a result of applying a quality system approach recommended by the World Health Organization (WHO) (36). Due to their low cost and technical advantages, they have been adopted into national HIV voluntary counseling and testing (VCT) guidelines in many African countries. Their sensitivity and specificity have been studied in Kenya (12), Tanzania (22), Uganda (15), Zambia (30), South Africa (25), Cameroon (1), Central African Republic (24), Democratic Republic of Congo (19), Ghana (2), Ivory Coast (32), and Burkina Faso (23, 28).

One objective for rapid HIV testing is to minimize the occurrence of indeterminate results (i.e., discordant results when using at least two different rapid tests). It is often quite difficult for HIV counselors and health care providers to disclose such indeterminate results. In the context of interventions for prevention of mother-to-child transmission (PMTCT) of HIV-1 (which can require immediate decisions, notably during labor), medical staff need to know rapidly the HIV status of the woman from the laboratory in order to provide her, or not, antiretroviral (ARV) prophylaxis (5, 26, 27). The prolonged delay in the decision (by performing additional tests or by retesting women 14 days later) can be inappropriate in the clinical routine since women may deliver before obtaining definitive results.

The aims of this study conducted among pregnant women from Burkina Faso (West Africa) with a low risk of early HIV-1 seroconversion were (i) to determine the prevalence rates of indeterminate results by using two rapid tests in a sequential algorithm, as recommended in Burkina Faso, and (ii) to assess, using additional tests, the biological significance of indeterminate results in order to define a more rational strategy at the individual and public health levels.

(This work was presented in part at the 15th Conference on AIDS and STDs in Africa, Dakar, Senegal, 3 to 7 December 2008 [17].)

* Corresponding author. Present address: 2 Place de la Chaîne, 17000 La Rochelle, France. Phone: 226.20.97.01.02. Fax: 226.20.97.04.57. E-mail: franrouet@yahoo.fr.

[∇] Published ahead of print on 3 February 2010.

TABLE 1. Prevalence rates of indeterminate and positive serological HIV results obtained with the Determine and Genie II rapid assays according to a sequential algorithm^a

HIV rapid testing result	No. of results (%)				P
	2005 (n = 12,592)	2006 (n = 15,725)	2007 (n = 16,336)	Total (n = 44,653)	
Indeterminate (Determine positive, Genie II negative)	152 (1.21)	213 (1.35)	232 (1.42)	597 (1.34)	0.29
Positive (Determine positive, Genie II positive) ^b	554 (4.40)	623 (3.96)	726 (4.44)	1,903 (4.26)	0.07
HIV-1	519 (4.12)	576 (3.66)	681 (4.17)	1,776 (3.98)	0.04
HIV-2	19 (0.15)	22 (0.14)	17 (0.10)	58 (0.13)	0.50
HIV-1 + 2	16 (0.13)	25 (0.16)	28 (0.17)	69 (0.15)	0.63

^a Prevention of mother-to-child transmission (PMTCT) Kesho Bora trial, Bobo-Dioulasso, Burkina Faso (2005–2007).

^b The differentiation between HIV-1 and HIV-2 was achieved by using the Genie II test (see Materials and Methods).

MATERIALS AND METHODS

Studied population. The studied population consisted of ARV-naïve pregnant women from Bobo-Dioulasso (Burkina Faso, West Africa) screened for HIV from January 2005 to December 2007 in order to participate in the multicenter PMTCT Kesho Bora trial (10), which evaluated the impact of highly active antiretroviral therapy (HAART) during pregnancy and breastfeeding on mother-to-child transmission (MTCT). During VCT, HIV screening was performed by two rapid assays (see "Laboratory methods" below). In Bobo-Dioulasso (the second city of Burkina Faso, located in the western part of the country), it was carried out in 18 antenatal clinics. A written informed consent was obtained from all participants. The study protocol was reviewed and approved by the WHO ethics committee and the Institutional and National Ethical Review Boards in Burkina Faso.

Laboratory methods. (i) **On-site rapid HIV testing.** As recommended by the WHO for countries with limited resources and with a relatively low HIV prevalence (~4% in Burkina Faso) (9, 29), on-site rapid HIV testing was performed by using two distinct rapid assays according to a sequential testing algorithm. We used a sensitive test first and followed it by a second specific test, allowing the confirmation of initial positive results and the discrimination between HIV type 1, type 2, and type 1 + 2 infections. All plasma (or serum) samples were first tested by the immunochromatographic Determine HIV1/2 test (Abbott Laboratories, Wiesbaden, Germany). Samples found nonreactive by the Determine assay were considered true HIV-negative results. No further serological test was performed. Women were thus given negative results. If reactive, they were further assessed by the immunofiltration Genie II HIV-1/HIV-2 assay (Bio-Rad Laboratories, Marnes-la-Coquette, France). If the two assays were concordantly positive, women were given positive results. Discordant specimens, meaning positive by the Determine test but negative by the Genie II, were considered indeterminate and submitted to supplemental assays. All assays were interpreted according to manufacturer's specifications. One day of training for nonlaboratory personnel (such as midwives, nurses, nursing auxiliaries, and ward orderlies) was provided at each site by the reference laboratory (Virology Laboratory, Centre Muraz, Bobo-Dioulasso, Burkina Faso). Quality assurance programs, including refrigerator temperature monitoring as well as regular follow-up visits to check on specimen collection, laboratory procedures, and records, were conducted at least once a month during the first 6 months and at a lower frequency thereafter. After testing, all samples with indeterminate results were stored for a median time of 2.5 days (range, 1 to 5) on sites, mostly at -20°C (~80% of cases) or 4°C, depending on the capacities of each site. According to trial-specific procedures, women with indeterminate results were asked to return for HIV testing in 3 months (after their initial testing) in order to identify seroconverters. During the Kesho Bora trial, even if this meant overtreatment some participants, all women with indeterminate results were given 200 mg of nevirapine (NVP) at labor. Their newborn babies received a single dose of NVP within 72 h after birth.

(ii) **Supplementary assays.** All available specimens showing indeterminate HIV results were systematically sent once a week to the reference virology laboratory of Centre Muraz (Bobo-Dioulasso), stored at -20°C, and further tested with a fourth-generation (G4) EIA, the Murex HIV Ag/Ab combination (Abbott, Dartford, Kent, United Kingdom), from January 2005 to December 2006, and then the Vironostika HIV Uni-Form II Ag/Ab (bioMérieux Laboratories, Boxtel, The Netherlands) till January 2007. No additional consent was required for further testing by EIAs. All assays were interpreted according to the manufacturer's instructions. If negative, no additional test was further performed and the woman was given a negative result. If positive (signal/cutoff [S:C] ratio of

≥1), samples were finally assessed for HIV-1 RNA by using the quantitative real-time PCR Generic HIV viral load assay (Biocentric, Bandol, France) (31). The low detection limit of this assay was 300 copies/ml using 0.2 ml of plasma. A low positive control (LPC; target value, 3.8 log₁₀ copies/ml; accepted ranges, 3.5 to 4.1 log₁₀ copies/ml), included in the kit, was used to validate each run. As previously documented for other HIV-1 RNA assays (20), with the Generic HIV viral load assay, serum (versus plasma) samples produced differences in log₁₀ HIV-1 RNA levels that were not statistically significant (unpublished data). If HIV-1 RNA was detectable (>300 copies/ml), the woman was considered HIV positive and received relevant posttest counseling. If the HIV-1 RNA level was <300 copies/ml, she was considered HIV negative.

Statistical analysis. Statistical analysis was performed using Epi Info version 6.0 software (Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA). HIV prevalence rates of indeterminate and positive results were expressed in percentages, with 95% confidence intervals (95% CI). Indeterminate and positive prevalence rates were compared according to the study period by using the Pearson chi-square test.

RESULTS

On-site results. Between 2005 and 2007, 51,983 pregnant women attended one of the 18 antenatal clinics. Their mean age was 24.6 ± 6.1 years. Eighty-eight percent were married. A total of 44,653 (85.9%) were accepted to be screened for HIV antibodies by rapid HIV testing during the 3 years (2005, n = 12,592; 2006, n = 15,725; and 2007, n = 16,336) (Table 1). Among these, a total of 597 specimens were found Determine positive but Genie II negative, yielding an overall 1.3% prevalence of indeterminate results (95% CI, 1.2 to 1.4). No significant difference was obtained in terms of the rates of the prevalence of indeterminate results according to the three studied years (χ² test, P = 0.29). In addition, 1,903 (4.3%; 95% CI, 4.1 to 4.4) samples were found concordantly positive, mostly (>90%) represented by HIV-1 mono-infections.

Among the 597 indeterminate women, 110 were retested from 15 days to 3 months after their initial screening. All of them maintained the same indeterminate profile. No case of HIV-1 seroconversion could be documented.

Additional assays results. Among the 597 samples found indeterminate, 367 (61.5%) could be further analyzed for either Murex (n = 228) or Vironostika (n = 139) G4 EIA results. It must be pointed out that all 597 samples were tested by EIA. However, 230 results were missing in our database because they were directly transmitted to women without being recorded. Overall, a vast majority (352/367, 95.9%; 95% CI, 93.5 to 97.6) of samples were found negative by EIA. Only 15 (15/367, 4.1%; 95% CI, 2.4 to 6.5) specimens were found EIA

reactive, with no significant difference according to the EIA used (8/228, 3.5% with Murex versus 7/139, 5.0% with Vironostika, χ^2 test, $P = 0.47$). Eight of them had low S/C ratios (<2) (range, 1.04 to 13.66).

Out of these 15 samples, 11 could be assessed for the presence of HIV-1 RNA. All of them were found strictly negative for HIV-1 RNA, including all specimens exhibiting high S/C ratios. The four results missing were due to specimens that were not available (insufficient volume). Results obtained for the LPC were strictly within the accepted ranges.

DISCUSSION

Our study conducted in Burkina Faso demonstrated that the prevalence rate of indeterminate HIV results obtained with the Determine and Genie II assays through a sequential algorithm was relatively low (~1%) and stable over a 3-year period. This estimated prevalence of indeterminate results compares very closely to prevalence rates previously documented with the same rapid tests and algorithms for African pregnant women living in Ivory Coast (32) (where the CRF02_AG and CRF06_cpx strains are predominant, as in Burkina Faso) (35) and South Africa (where subtypes C represent almost all circulating strains) (25). However, Aghokeng et al. (1) reported higher rates (9.0%) of indeterminate results in Cameroon, probably related to the higher HIV genetic diversity found in this country. In fact, the comparison between studies is difficult due to differences in study design, study period, population selection, and assays/testing algorithm approaches.

Based on a large sample size, our survey also revealed that indeterminate results were false-positive reactivities. Indeed, in a very large (~96%) proportion, these false-positive results were not confirmed by EIA results, which remained negative. Gray et al. (15) in Uganda obtained similar results (94.1%), notably due to weak positive bands not confirmed as positive by EIAs and WBs. The WHO recommends that if two tests (rapid tests or EIAs in our context) out of three are negative, the result can be interpreted as presumptively HIV negative. False-positive reactions in HIV serological tests have been documented widely for both rapid tests (2, 15, 19, 33) and EIA techniques (8, 11, 13). The causes of false-positive reactions are many and include cross-reactive epitopes (7, 13, 18, 34) (as seen, for instance, in malaria, schistosomiasis, tuberculosis, or human T-cell leukemia virus type 1 [HTLV-1] infections), general immune activation due to multiple concomitant infections, nonspecific IgG binding, or contaminating proteins. Finally, for the remaining 4 percent of samples exhibiting a positive EIA result, we were not able to identify early seroconversions by HIV-1 RNA testing.

Our study has several limitations. The intensity of positive bands obtained with the Determine assay was not recorded. In fact, weak bands were considered positive results, as recommended by the manufacturer. It has been shown by Gray et al. that HIV-negative sera can exhibit weak bands (15). Since HIV prevalence is low in Burkina Faso, the probability of having seroconverters in our studied population is low. The conclusions of our study may not apply to subjects harboring very diverse HIV-1 strains (such as in Cameroon), for which inaccurate diagnosis of HIV-1 groups M and O is challenging (1). Further, given that only 367 indeterminate samples (out of a

total of 567) could be analyzed in our database for G4 EIAs and only 11 (out of a total of 15) with a positive EIA result could be assessed for HIV-1 RNA, our survey was not able to fully investigate all potential HIV seroconversions. However, we think that missing data for EIAs did not introduce bias in the results obtained. More importantly, under our field conditions, some specimens were stored at 4°C 5 days before HIV-1 RNA testing. One can argue that these storage conditions had a negative impact on HIV-1 RNA stability, yielding HIV-1 RNA undetectability (equivalent to false-negative results). However, it has been reported that samples can maintain their HIV-1 RNA concentrations for at least 14 days at 5°C and around 3 years at -20°C (14, 16). Amellal and colleagues also demonstrated that 1 week of storage of plasma specimens at 4, 22, and 30°C did not significantly affect HIV-1 RNA viral load levels (3, 4). In contrast, they obtained reduced median HIV RNA concentrations for samples stored at 37°C. These authors concluded that in resource-constrained settings, plasma samples can be saved for up to 1 week at these temperatures before shipping to a reference laboratory. Also, it is well known that early seroconversions in adults are associated with very high HIV-1 RNA levels (21) and therefore unlikely to become fully undetectable under the storage conditions of our study. Furthermore, it was not possible to identify during follow-up HIV seroconversions among women with such indeterminate results. Finally, among those indeterminate samples, no HIV-2 molecular assay was performed. However, in Burkina Faso, the HIV-2 infection prevalence rate is much lower than that reported for HIV-1, as shown in our survey.

In conclusion, the national policy and guidelines for HIV screening in Burkina Faso, recommending the use of Determine and Genie II assays through a sequential algorithm, yield a relatively low frequency of indeterminate false-positive results EIA negative. In our setting, with relatively low genetic HIV-1 diversity and a moderate HIV prevalence rate, when a third rapid test is not available and/or when there is a very short time window between HIV testing in the labor ward and PMTCT intervention, pregnant women with such indeterminate test results are now individually reassured during posttest counseling that they are very unlikely to be infected with HIV-1. If possible, they are also counseled to be retested after 14 days. In community-based clinic settings, given the potential clinical risks and the cost of unnecessary ARV prophylaxis for women and infants, as well as the potential stigma resulting from considering wrongly a subject HIV positive, clinicians can reliably decide not to provide PMTCT prophylaxis to these women showing nearly exclusively nonspecific reactions.

ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by the WHO Department of Reproductive Health and Research, Switzerland (Isabelle de Vincenzi, Tim Farley, Philippe Gaillard, Ndema Habib, and Sihem Landoulsi) and the French Agence Nationale de Recherche sur le SIDA et les Hépatites Virales (ANRS) (Brigitte Bazin and Claire Rekecwicz).

We acknowledge the Kesho Bora study team in Burkina Faso for their efforts in the achievement of this study and all participating pregnant women.

REFERENCES

1. Aghokeng, A. F., E. Mpoudi-Ngole, H. Dimodi, A. Atem-Tambe, M. Tongo, C. Butel, E. Delaporte, and M. Peeters. 2009. Inaccurate diagnosis of HIV-1 group M and O is a key challenge for ongoing universal access to antiretroviral treatment and HIV prevention in Cameroon. *PLoS One* 4:e7702.

2. Aidoo, S., W. K. Ampofo, J. A. Brandful, S. V. Nuvor, J. K. Ansah, N. Nii-Trebi, J. S. Barnor, F. Apegyei, T. Sata, D. Ofori-Adjei, and K. Ishikawa. 2001. Suitability of a rapid immunochromatographic test for detection of antibodies to human immunodeficiency virus in Ghana, West Africa. *J. Clin. Microbiol.* 39:2572-2575.
3. Amellal, B., C. Katlama, and V. Calvez. 2007. Evaluation of the use of dried spots and of different storage conditions of plasma for HIV-1 RNA quantification. *HIV Med.* 8:396-400.
4. Amellal, B., R. Murphy, A. Maiga, G. Brucker, C. Katlama, V. Calvez, and A. G. Marcelin. 2008. Stability of HIV RNA in plasma specimens stored at different temperatures. *HIV Med.* 9:790-793.
5. Bolu, O. O., V. Allread, T. Creek, E. Stringer, F. Forn, M. Bulterys, and N. Shafer. 2007. Approaches for scaling up human immunodeficiency virus testing and counseling in prevention of mother-to-child human immunodeficiency virus transmission settings in resource-limited countries. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 197:S83-S89.
6. Bulterys, M., D. J. Jamieson, M. J. O'Sullivan, M. H. Cohen, R. Maupin, S. Nesheim, M. P. Webber, R. VanDyke, J. Wiener, and B. M. Branson. 2004. Rapid HIV-1 testing during labor—a multicenter study. *JAMA* 292:219-223.
7. Celum, C. L., R. W. Coombs, M. Jones, V. Murphy, L. Fisher, C. Grant, L. Corey, T. Inui, M. H. Wener, and K. K. Holmes. 1994. Risk factors for repeatedly reactive HIV-1 EIA and indeterminate western blots. A population-based case-control study. *Arch. Intern. Med.* 154:1129-1137.
8. Chanchancherd, P., A. Jugsudee, S. Thanomklom, N. Limpairon, P. Julananto, P. Thienamporn, L. E. Markowitz, M. S. de Souza, and A. E. Brown. 1999. Frequency of HIV false positivity from two sequential enzyme immunoassays in 111 639 sera. *AIDS* 13:2182-2183.
9. Collenberg, E., T. Ouedraogo, J. Ganame, H. Fickenscher, G. Kynast Wolf, H. Becher, B. Kouyate, H. G. Krausslich, L. Sangare, and D. M. Tebit. 2006. Seroprevalence of six different viruses among pregnant women and blood donors in rural and urban Burkina Faso: a comparative analysis. *J. Med. Virol.* 78:683-692.
10. de Vincenzi, I., and the Kesho Bora Study Group. 2009. Triple-antiretroviral prophylaxis during pregnancy and breastfeeding compared to short-ARV prophylaxis to prevent mother-to-child transmission of HIV-1: the Kesho Bora randomized controlled clinical trial in five sites in Burkina Faso, Kenya, and South Africa, abstr. LBPEC01. Abstr. 5th Int. AIDS Soc. Conf. HIV Pathog. Treat., Cape Town, South Africa, 19 to 22 July 2009.
11. Elm, J., R. Desowitz, and A. Diwan. 1998. Serological cross-reactivities between the retroviruses HIV and HTLV-1 and the malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *P. N. G. Med. J.* 41:15-22.
12. Foglia, G., G. D. Royster, K. M. Wasunna, R. Kibaya, J. A. Malia, E. K. Calero, W. Sateron, P. O. Renzullo, M. L. Robb, D. L. Bix, and N. L. Michael. 2004. Use of rapid and conventional testing technologies for human immunodeficiency virus type 1 serologic screening in a rural Kenyan reference laboratory. *J. Clin. Microbiol.* 42:3850-3852.
13. Gasasira, A. F., G. Dorsey, M. R. Kanya, D. Havlir, M. Kiggundu, P. J. Rosenthal, and E. D. Charlebois. 2006. False-positive results of enzyme immunoassays for human immunodeficiency virus in patients with uncomplicated malaria. *J. Clin. Microbiol.* 44:3021-3024.
14. Gessoni, G., P. Barin, S. Valverde, A. Giacomini, C. Di Natale, E. Orlandini, N. Arreghini, G. De Fusco, A. Frigato, M. Fezzi, F. Antico, and G. Marchiori. 2004. Biological qualification of blood units: considerations about the effects of sample's handling and storage on stability of nucleic acids. *Transfus. Apher. Sci.* 30:197-203.
15. Gray, R. H., F. Makumbi, D. Serwadda, T. Lutalo, F. Nalugoda, P. Opendi, G. Kigozi, S. J. Reynolds, N. K. Sewankambo, and M. J. Wawer. 2007. Limitations of rapid HIV-1 tests during screening for trials in Uganda: diagnostic test accuracy study. *BMJ* 335:188-190.
16. José, M., R. Gajardo, and J. I. Jorquera. 2005. Stability of HCV, HIV-1 and HBV nucleic acids in plasma samples under long-term storage. *Biologicals* 33:9-16.
17. Kania, D., P. Fao, C. Gouem, D. Valén, E. Compaore, A. Zango, M. Nouctara, and N. Méda. 2008. Use of HIV rapid diagnostic tests: frequency of indeterminate results among pregnant women in Bobo-Dioulasso, Burkina Faso, abstr. 616/SOA08. Abstr. 15th Conf. AIDS STDs Africa, Dakar, Senegal, 3 to 7 December 2008.
18. Kashala, O., R. Marlink, M. Ilunga, M. Diese, B. Gormus, K. Xu, P. Mukeba, K. Kasongo, and M. Essex. 1994. Infection with human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) and human T cell lymphotropic viruses among leprosy patients and contacts: correlation between HIV-1 cross-reactivity and antibodies to lipoarabinomannan. *J. Infect. Dis.* 169:296-304.
19. Klarkowski, D. B., J. M. Wazome, K. M. Lokuge, L. Shanks, C. F. Mills, and D. P. O'Brien. 2009. The evaluation of a rapid in situ HIV confirmation test in a programme with a high failure rate of the WHO HIV two-test diagnostic algorithm. *PLoS One* 4:e4351.
20. Lew, J., P. Reichelderfer, M. G. Fowler, J. Bremer, R. Carroll, S. Cassol, D. Chernoff, R. Coombs, M. Cronin, R. Dickover, S. Fiscus, S. Herman, B. Jackson, J. Kornegay, A. Kovacs, K. McIntosh, W. Meyer, N. Michael, L. Mofenson, J. Moye, T. Quinn, M. Robb, M. Vahey, B. Weiser, and T. Yeghiazarian. 1998. Determinations of levels of human immunodeficiency virus type 1 RNA in plasma: reassessment of parameters affecting assay outcome. TUBE Meeting Workshop Attendees. *J. Clin. Microbiol.* 36:1471-1479.
21. Lindback, S., A. C. Karlsson, J. Mittler, A. Blaxhult, M. Carlsson, G. Briheim, A. Sonnerborg, and H. Gaines. 2000. Viral dynamics in primary HIV-1 infection. *AIDS* 14:2283-2291.
22. Mayhood, M. K., I. A. Afwamba, C. O. Odhiambo, E. Ndanu, N. M. Thielman, A. B. Morrissey, J. F. Shao, B. Wells Pence, and J. A. Crump. 2008. Validation, performance under field conditions, and cost-effectiveness of Capillus HIV-1/HIV-2 and Determine HIV-1/2 rapid human immunodeficiency virus antibody assays using sequential and parallel testing algorithms in Tanzania. *J. Clin. Microbiol.* 46:3946-3951.
23. Meda, N., L. Gautier-Charpentier, R. B. Soudré, H. Dahourou, R. Ouedraogo-Traoré, A. Ouagré, A. Bambara, A. Kpozehouen, H. Sanou, D. Valéa, F. Ky, M. Cartoux, F. Barin, and P. Van de Perre. 1999. Serological diagnosis of human immunodeficiency virus in Burkina Faso: reliable, practical strategies using less expensive commercial test kits. *Bull. World Health Organ.* 77:731-739.
24. Ménard, D., A. Mairo, M. J. Mandeng, P. Doyemet, T. D. Koyazegbe, C. Rochigneux, and A. Talarmin. 2005. Evaluation of rapid HIV testing strategies in under equipped laboratories in the Central African Republic. *J. Virol. Methods* 126:75-80.
25. Mkwanazi, N. B., D. Patel, M. L. Newell, N. C. Rollins, A. Coutoudis, H. M. Coovadia, and R. M. Bland. 2008. Rapid testing may not improve uptake of HIV testing and same day results in a rural South African community: a cohort study of 12,000 women. *PLoS One* 3:e3501.
26. Pai, N. P., R. Barick, J. P. Tulsy, P. V. Shivkumar, D. Cohan, S. Kalantri, M. Pai, M. B. Klein, and S. Chhabra. 2008. Impact of round-the-clock, rapid oral fluid HIV testing of women in labor in rural India. *PLoS Med.* 5:e92.
27. Pai, N. P., and M. B. Klein. 2009. Rapid testing at labor and delivery to prevent mother-to-child HIV transmission in developing settings: issues and challenges. *Women's Health (Lond. Engl.)* 5:55-62.
28. Pignatelli, S., J. Simpo, V. Pietra, L. Ouedraogo, G. Conombo, N. Saleri, C. Pizzocolo, G. De Iaco, F. Tall, A. Ouimanga, G. Carosi, and F. Castelli. 2006. Factors predicting uptake of voluntary counselling and testing in a real-life setting in a mother-and-child center in Ouagadougou, Burkina Faso. *Trop. Med. Int. Health* 11:350-357.
29. Plate, D. K., for the Rapid HIV Test Evaluation Working Group. 2007. Evaluation and implementation of rapid HIV tests: the experience in 11 African countries. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 23:1491-1498.
30. Plourde, P. J., S. Mphuka, G. K. Muyinda, M. Banda, K. Sichali-Sichinga, D. Chama, and A. R. Ronald. 1998. Accuracy and costs of rapid human immunodeficiency virus testing technologies in rural hospitals in Zambia. *Sex. Transm. Dis.* 25:254-259.
31. Rouet, F., M. L. Chaix, E. Nerrienet, N. Ngo-Giang-Huong, J. C. Plantier, M. Burgard, M. Peeters, F. Damond, K. D. Ekouevi, P. Msellati, L. Ferradini, S. Rukobo, V. Maréchal, N. Schvachsa, L. Wakrim, C. Rafalimanana, B. Rakotoambinina, J. P. Viard, J. M. Seigneurin, and C. Rouzioux. 2007. Impact of HIV-1 genetic diversity on plasma HIV-1 RNA quantification: usefulness of the Agence Nationale de Recherches sur le SIDA second-generation long terminal repeat-based real-time reverse transcriptase polymerase chain reaction. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* 45:380-388.
32. Rouet, F., D. K. Ekouevi, A. Inwoley, M.-L. Chaix, M. Burgard, L. Bequet, I. Viho, V. Leroy, F. Simon, F. Dabis, and C. Rouzioux. 2004. 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.* 42:4147-4153.
33. Singer, D. E., N. Kiwanuka, D. Serwadda, F. Nalugoda, L. Hird, J. Bulken Hoover, G. Kigozi, J. A. Malia, E. K. Calero, W. Sateron, M. L. Robb, F. Wabwire Mangan, M. Wawer, R. H. Gray, N. Sewankambo, D. L. Bix, and N. L. Michael. 2005. Use of stored serum from Uganda for development and evaluation of a human immunodeficiency virus type 1 testing algorithm involving multiple rapid immunoassays. *J. Clin. Microbiol.* 43:5312-5315.
34. Swaminathan, S., L. E. Hanna, J. C. Sundaramurthi, A. Leonard, B. Angayarkanni, A. C. Francis, S. Lakshmi, and K. Nayak. 2008. Prevalence and pattern of cross-reacting antibodies to HIV in patients with tuberculosis. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 24:941-946.
35. Tebit, D. M., J. Ganame, K. Sathiandee, Y. Nagabila, B. Coulibaly, and H. G. Krausslich. 2006. Diversity of HIV in rural Burkina Faso. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* 43:144-152.
36. World Health Organization. 2005. Guidelines for assuring the accuracy and reliability of HIV rapid testing: applying a quality system approach. World Health Organization, Geneva, Switzerland. http://www.who.int/diagnostics_technology.