

Ministère de l'Enseignement
Supérieur et de la Recherche Scientifique

REPUBLIQUE DU MALI
Un peuple Un But Un Foi

UNIVERSITE DES SCIENCES, DES TECHNIQUES ET DES
TECHNOLOGIES DE BAMAKO (USTTB)



U.S.T.T-B

Année Universitaire 2016-2017

Faculté de Médecine et d'Odontostomatologie



Thèse N°/

THEME

**Etude de concordance de trois (03) tests de
dépistage du VIH au CNTS de Bamako**

Thèse:

**Présentée et soutenue publiquement le 11/10/2017 Devant la Faculté de
Médecine, et D'odontostomatologie (FMOS)**

Par: M. Bamadou DEMDELE

Pour obtenir le grade de docteur en médecine

(DIPLOME D'ETAT)

COMPOSITION DU JURY

Président: Pr Mounirou BABY

Membre: Dr Djakaridia M.TRAORE

Co-directeur de thèse: Dr Hassana GUITTEYE

Directeur de thèse: Pr Boubacar MAIGA

DEDICACES

Au nom d'ALLAH, le tout Miséricordieux, le très Miséricordieux.

<< Gloire à toi ! Nous n'avons de savoir que ce que tu nous as appris. Certes c'est toi l'Omniscient, le sage >> Sourate 2, Verset : 32 (le saint Coran).

Louange et gloire à Dieu le Tout Puisant qui nous a permis de mener à bien ce travail et que la grâce, le salut, les bénédictions et la paix d'Allah soient accordés au meilleur de ses créatures, notre prophète et sauveur Mohamed ibn Abdoullah ibn Abdelmoutalib, aux membres de sa famille, ses compagnons ainsi que ceux qui le suivent jusqu'au jour du jugement dernier.

Cette thèse est la consécration de plusieurs années d'étude au cours desquelles, désillusion, découragement et succès ont été tour à tour au rendez-vous. Au fil des années, cette impatience s'est émoussée mais la soif de connaissance est demeurée intacte.

A la mémoire de mon père feu Sidy Dembélé

(Dors en paix papa)

Très cher père, les mots me manquent pour t'exprimer toute l'affection et la considération que j'éprouve pour toi. Tes efforts pour nous assurer une bonne éducation fondée sur les valeurs de probité, d'intégrité et de dignité associés à ton optimisme pour notre réussite dans la vie m'ont permis à l'aboutissement de mes études. J'aurai tellement voulu que tu sois là parmi nous afin d'assister ce moment solennel mais Dieu en a décidé autrement.

Que ce travail soit un gage de ton profond amour.

*Repose en paix cher père et qu'ALLAH le Tout Puissant t'accorde son Paradis.
Amen !*

*A ma mère, **Mme Fatoumata Cissé**: Ta générosité, ta clairvoyance, ton amour pour tes enfants et ceux d'autrui font de toi une mère exemplaire. Tu as consacré entièrement ton temps à ton foyer et à notre éducation, sans jamais te lasser, sans jamais te plaindre et sans jamais flancher. Chère mère, tu nous as donné ce qu'une mère peut donner de plus précieux à ses enfants : amour, affection, soutien sans faille, conseils et j'en passe....*

Bref aucun mot au monde ne pourrait mieux expliquer mes sentiments de reconnaissance de tes bienfaits. Nous prions le tout puissant afin qu'il t'accorde une longue et heureuse vie avec une santé de fer afin que tu puisses profiter pleinement du fruit de tes sacrifices.

REMERCIEMENTS

A mes sœurs et mon frère de lait, Mariam Dembélé, Fatoumata Dembélé et Dr Dembélé Moussa : votre amour, votre soutien, vos encouragements et surtout vos prières ont été pour moi un secours inestimable. Recevez ma gratitude et ma reconnaissance, que Dieu nous garde unis.

A la famille Doumbia à Niamakoro Cité-UNICEF particulièrement à ma tante Maimouna Sanogo: merci pour l'accueil que vous m'avez réservé, durant ces huit années passées à vos côtés, je me suis toujours senti chez moi.

Aux familles Hamady Diarra à ségou pelengana, Sidiki Camara à Bamako-Niamana, Kadiatou Traoré et Ami Ballo Bamako-Point G : merci pour vos soutiens.

A ma tante Maïmouna Cissé dite Masco: vous avez été pour moi plus qu'une mère, votre amour ,votre soutien sans faille, vos encouragements, vos conseils, vos prières et bénédictions sans cesse m'ont permis de faire ce travail. Recevez ici ma profonde reconnaissance.

A mes tantes : Oumou Cissé et Ramata Cissé, merci pour vos soutiens.

A mes tontons : Mory Kané et Boubacar Sow merci pour vos soutiens.

A mon ami Dr Jean Douba Mounkoro : tu as été plus qu'un frère, celui sans qui cette aventure n'aurait pas été ce qu'elle est. Je n'ai jamais eu l'occasion de te remercier pour ces années de dur labeur mais fabuleuses passées ensemble. Trouve à travers ce document l'expression de ma plus grande admiration et de mon profond respect.

A mes amis: Bourama Koné, Yaya Diarra, Dr Niaré Aboubacar, Dr Boré Dramane, Dr Traoré Dramane, Youssouf Mariko ,Souleymane Tangara, Aboubacar Traoré, Abdoulaye Djiré, Adama Sidibé, Moussa Z Diarra, Adama Temé. Vous avez été plus que des amis, vous étiez une famille. J'ai beaucoup

appris de vous tout au long du cycle tant sur le plan social qu'éducatif. Si j'y suis arrivé, c'est quelque part grâce à vous. Soyez-en remerciés pour ces années de franche collaboration dans l'entente et la courtoisie. Qu'Allah fortifie et bénit ce lien d'amitié tissé jusqu'à la fin des temps.

Au Dr Hassana Guitteye : vous avez été pour moi plus qu'un maître, votre soutien sans faille, votre disponibilité et surtout votre sens élevé de compréhension m'ont permis de faire ce travail. Recevez ici ma profonde reconnaissance.

Au Pr Boubacar Maïga : plus qu'un maître pour nous les étudiants, votre disponibilité permanente, votre soutien sans faille, votre sens élevé d'humanisme, votre ardeur humaine a fait de vous un homme à qualité inestimable. Que Dieu vous garde longtemps à côté de nous avec une santé de fer.

Au corps professoral de la faculté de médecine et d'odontostomatologie : « *On peut dire que l'acte d'informer est un acte de transaction dans lequel l'objet d'échange qui circule entre les partenaires est un certain savoir, que l'un est censé posséder, et l'autre pas, que l'un est chargé de transmettre et l'autre censé recevoir, comprendre, interpréter, subissant du même coup une modification de son état de connaissance, et dont le résultat ne peut être mesuré qu'à la possible réaction de cet autre* » **CHARAUDEAU** ; pour la qualité de l'enseignement reçu.

A tout le personnel du CNTS: tout le temps que nous avons passé ensemble me reste un souvenir inoubliable. Merci pour votre soutien.

Aux internes du CNTS: Portio Louise Ballo, Yacouba Traoré, Mamadou Diarra, Soulé Diassana, Abdoulaye Sogoba, Diarradjan Konaté.

A la promotion Feu Moussa Traoré pour ces années de durs labeurs que nous avons passées ensemble.

A ma patrie le Mali.

Etude de concordance de trois (03) tests de dépistage du VIH au CNTS de Bamako

Merci à tous ceux qui n'ont pas leur nom dans ce document et qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail. Que Dieu nous bénisse. Amen

HOMMAGES AUX JURY

A notre maître et Président du jury

Professeur Mounirou BABY

- ❖ Professeur titulaire d'Hématologie à la Faculté de Pharmacie ;
- ❖ Membre du comité technique du programme de sécurité sanitaire mondiale du Mali ;
- ❖ Membre de l'association Malienne de Biosûreté et Biosécurité ;
- ❖ Secrétaire chargé des questions de recherche, de formation et d'éthique de la Société Malienne d'Hématologie et d'Oncologie (SOMAHO) ;
- ❖ Secrétaire de la commission scientifique de la Société Africaine Francophone d'Hématologie (SAFHEMA) ;
- ❖ Point focal Biosûreté et Biosécurité au Ministère de la Santé et de l'Hygiène publique ;
- ❖ Point focal "One Health" au Ministère de la Santé et de l'Hygiène publique ;

- ❖ Directeur Général du Centre National de Transfusion Sanguine.

Cher Maître:

Nous vous sommes infiniment reconnaissant d'avoir accepté de Présider ce travail malgré vos multiples occupations.

Homme de principe d'une simplicité extraordinaire, votre sacrifice permanent pour nous les étudiants, votre rigueur scientifique fait de vous un maître exemplaire, reconnu et admiré de tous. Nous avons été séduits par la clarté et la rigueur de vos enseignements.

Veillez accepter cher maître, l'expression de notre profonde gratitude et de notre éternelle reconnaissance.

A notre maître et Directeur de thèse

Professeur Boubacar Maïga

- ❖ Maître de conférences d'immunologie à la FMOS,
- ❖ Chef adjoint de DER des sciences fondamentales de la FMOS,
- ❖ Médecin chercheur au MRTC/DEAP,
- ❖ Chef de département Formation et Recherche au CNTS
- ❖ PhD en immunologie.

Cher Maître:

C'est pour nous un grand honneur et un réel plaisir de vous avoir comme directeur de ce travail malgré vos multiples occupations.

L'accueil que vous nous avez réservé ne nous a pas laissé indifférent.

Votre gentillesse, votre chaleur humaine, votre ardeur et votre rigueur scientifique font de vous un homme aux qualités indéniables.

Nous ne saurons trouver ici, cher Maître l'expression de notre sincère reconnaissance. Que Dieu vous prête longue vie.

A notre maître et co-directeur

Dr Hassana GUITTEYE

- ❖ Pharmacien hémobiologiste,
- ❖ Chef du département de laboratoire du CNTS

Cher maître:

Nous ne cesserons jamais de vous remercier pour la confiance que vous avez placée en nous afin d'effectuer ce travail. Votre simplicité, votre disponibilité et votre sérénité font de vous un maître exemplaire. Recevez, cher maître, l'expression de notre infinie reconnaissance et de notre profond respect.

A notre maître et membre de jury

Dr Djakaridia M TRAORE

- ❖ Pharmacien spécialiste en Immuno-Hémato-Transfusion
- ❖ Assistant en Hématologie à la FAPH
- ❖ Responsable de l'assurance qualité au CNTS

Cher maître:

Votre apport au cours de l'élaboration de cette thèse a été d'une qualité inestimable. Ce travail est donc le vôtre. Vos qualités humaines et intellectuelles, votre disponibilité permanente et votre simplicité font de vous un bon maître admiré.

Recevez cher maître l'expression de notre profonde gratitude et notre grande admiration.

LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS

ADN: Acide Désoxyribonucléique

ARN: Acide Ribonucléique

ARNm: Acide Ribonucléique messenger

ARV: Antiretroviral

Ag: Antigène

Ab: Anticorps

Ac: Anticorps

AFSSAPS: Agence Française pour la Sécurité Sanitaire et des Produits de santé.

CCR5: C-C Chemokine receptor 5

CD4: Cluster of differentiation 4

CDC: Center for Disease Control and Prevention

CNTS: Centre National de Transfusion Sanguine

Coll: Collaborateurs

DO: Densité optique

EDS: Enquête Démographique de Santé.

Ef: Efficacité

ENV: Enveloppe

ELISA: Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay

Franc CFA: Franc de la Communauté Française d'Afrique

GAG: Group Antigen

Gp: Glycoprotéine

IC: Intervalle de confiance

IgA: Immunoglobuline A

IgG: Immunoglobuline G

IgM: Immunoglobuline M

INRSP: Institut National de Recherche en Santé Publique.

IST: Infection Sexuellement Transmissible

MST: Maladies Sexuellement Transmissibles

OMS: Organisation Mondiale de la Santé

ONUSIDA: Organisation des Nations Unies pour le SIDA

P: Protéine

PNLS: Programme National de Lutte contre le Sida

Pol: Polymérase

RIPA: Radio ImmunoPrecipitation Assay

SIDA: Syndrome de l'Immunodéficience Acquise

VIH: Virus de l'immunodéficience Humaine

Liste des tableaux:

Tableau I: Résumé des trois indicateurs clés concernant l'épidémie d'infection à VIH/Sida de 2001 à 2014	4
Tableau II: Critères d'interprétation du Western Blot positif selon les différentes institutions:	15
Tableau III: Répartition des donneurs en fonction du type de dons	40
Tableau IV: Répartition des donneurs selon le lieu de collecte	41
Tableau V: Résultat du Genscreen sur les 834 sérums	41
Tableau VI: Résultat du Murex sur les 834 Sérums	41
Tableau VII: Résultat d'Apdia sur les 834 sérums	42
Tableau VIII: Séroprévalence du VIH	42
Tableau IX: Résultat du western Blot sur 36 échantillons positifs	42
Tableau X: Résultat du Murex par rapport Genscreen	43
Tableau XII: Résultat du Genscreen par rapport à l'Apdia.....	43
Tableau XIII: Résultat de l'Apdia par rapport au Murex.....	44
Tableau XIII: Concordance entre les tests	44

Liste des figures

Figure 1: Structure du VIH selon Y. Gille in www.google.fr / rubrique santé/SIDA [9].....	5
Figure 2: Cycle de réplication du virus de l'immunodéficience humaine [13]....	8
Figure 3: western blot confirmé positif Source: western blot bandelette HIV .pdf	14
Figure 4: Evolution des marqueurs.	18
Figure 5: Principe des tests de sérologie	23
Figure 6: Répartition des donneurs en fonction du sexe.....	38
Figure 7: Répartition des donneurs en fonction de la tranche d'âge	39
Figure 8: Répartition des donneurs en fonction du niveau d'instruction.....	39
Figure 9: Répartition des donneurs selon la profession	40

SOMMAIRE

DEDICACES	ii
REMERCIEMENTS	iv
HOMMAGES AUX JURY	vii
Liste des tableaux:	xiii
Liste des figures	xiii
INTRODUCTION:.....	1
1. Objectifs:	2
1.1. Objectif général:	2
1.2. Objectifs spécifiques:	2
2. GENERALITES	3
2.1. Historique du VIH [5]:	3
2.2. Epidémiologie: [6]	3
2.3. Rappels virologiques [7-8]	4
2.4. Cinétique des anticorps [22]	17
3. Méthodologie	19
3.1. Cadre et lieu d'étude:	19
3.2. Type et période d'étude:	20
3.3. Population d'étude et Echantillonnage:	20
3.4. Définitions opérationnelles:	20
3.6. Variables mesurées:	21
3.7. Techniques biologiques utilisées:	22
3.8. Traitement et analyse des données:	36
3.9. Aspects éthiques :	37
4-Résultats	38
4.1-Données sociodémographiques:	38
4.2. Données des tests de dépistages:	40
5. Commentaires-Discussion	45
5.1. Aspects méthodologiques:	45
5.2. Résultats:	45
6. Conclusion et Recommandations	49
6.1. Conclusion:	49
6.2. Recommandations	49
Annexes:	53

INTRODUCTION:

L'infection au virus de l'immunodéficience humaine (VIH) constitue un problème majeur de santé publique. Selon les chiffres de l'OMS/ONUSIDA de 2016, le nombre de personnes infectées par le VIH dans le monde s'élève à 36,7 millions dont 70% vivent en Afrique subsaharienne [1]. Au Mali, le taux de prévalence du VIH était à 1,1% en 2012 [2] mais cette enquête n'a pas pu être réalisée dans les régions touchées par la crise sociopolitique de mars 2012 (Gao, Tombouctou, Kidal). Compte tenu de l'ampleur de cette infection, son diagnostic correct est une priorité pour la sécurité transfusionnelle, la prise en charge des malades et la surveillance épidémiologique. Le diagnostic de l'infection à VIH fait appel à un test de référence, le western blot [3] mais le coût élevé de ce test et sa réalisation difficile ont amené l'OMS à recommander pour les pays en développement, l'utilisation d'algorithmes basés sur les tests ELISA et les tests rapides [4]. Vu le nombre important de coffrets de tests qui apparaissent sur le marché, il est important d'avoir des données sur la concordance entre les différents tests, c'est pourquoi nous nous sommes proposés d'étudier la concordance des tests Genscreen Ultra HIV Ag/Ac, Murex combo HIV Ag/Ac et Apdia HIV Ag/Ab.

1. Objectifs:

1.1. Objectif général:

Evaluer la concordance de trois (3) tests de dépistage du VIH au CNTS.

1.2. Objectifs spécifiques:

- Déterminer la prévalence du VIH chez les donneurs de sang
- Déterminer la concordance entre le test Murex HIV combinaison Ag/Ac et le test Genscreen Ultra Ag/Ac
- Déterminer la concordance entre le test Apdia HIV Ag/Ac et le test Genscreen Ultra Ag/Ac
- Déterminer la concordance entre Murex et Apdia.

2. GENERALITES

2.1. Historique du VIH [5]:

C'est le 5 juin 1981 que les Center for Disease Control and Prevention d'Atlanta rapportent quelques cas d'une forme rare de pneumonie qui touche spécifiquement des jeunes hommes homosexuels.

En 1983, le virus a été isolé par l'équipe du Professeur Luc Montagnier à l'institut Pasteur de Paris.

2.2. Epidémiologie: [6]

Fin 2016, 36,7 millions de personnes vivaient avec le VIH (PVVIH). 1,8 millions de personnes ont été nouvellement infectées, dont 240 000 enfants ; 1 million sont décédées de causes liées au sida.

De 2000 à 2015, le nombre de nouvelles infections a baissé de 35%, le nombre de décès liés au sida a baissé de 24%.

Environ 7,8 millions de vie ont été sauvées au cours des 15 dernières années.

En 2016, plus de 19,5 millions de PVVIH étaient sous thérapeutique antirétrovirale (TARV), soit plus de 53% des 36,7 millions de PVVIH.

Ces bons résultats ne doivent pas faire oublier que seulement 53% des personnes infectées par le VIH connaissent en 2016 leur statut VIH et que 35 millions de personnes sont décédées depuis le début de l'épidémie.

Tableau I: Résumé des trois indicateurs clés concernant l'épidémie d'infection à VIH/Sida de 2001 à 2014

Indicateurs/Années	2001	2003	2005	2007	2009	2011	2013	2014
Nombre PVVIH*	29,4	30,2	31	31,8	32,9	34	35	36,9
Nombre de personnes nouvellement infectées*	3,4	3	2,8	2,7	2,7	2,5	2,1	2
Nombre de personnes décédées*	1,9	2,1	2,2	2,1	1,9	1,7	1,5	1,2

*** en millions**

Le nombre des adultes et des enfants nouvellement infectés par le VIH dans la Région africaine de l'OMS a baissé de 41% entre 2000 et 2014 passant de 2,3 millions à 1,4 million. C'est la seule Région qui a enregistré un recul constant des nouvelles infections après 2010. Le nombre de personnes mortes de causes liées au SIDA a diminué de moitié cette dernière décennie : 790 000 en 2014 *versus* 1,5 million en 2004.

2.3. Rappels virologiques [7-8]

Il existe deux types de virus: le VIH1 et le VIH2. Ils sont des rétrovirus. Ce sont des virus de 90 à 120 nm de diamètre ayant une forme sphérique.

Les VIH1 et VIH2 sont deux virus différents, génétiquement apparentés.

Le virus du SIDA se compose d'un matériel génétique (ARN) accompagné de quelques protéines, le tout contenu dans deux coques protéiques appelées capsides, elles – mêmes entourées d'une membrane portant des protéines spécifiques. Cette membrane et ces protéines forment l'enveloppe du virus.

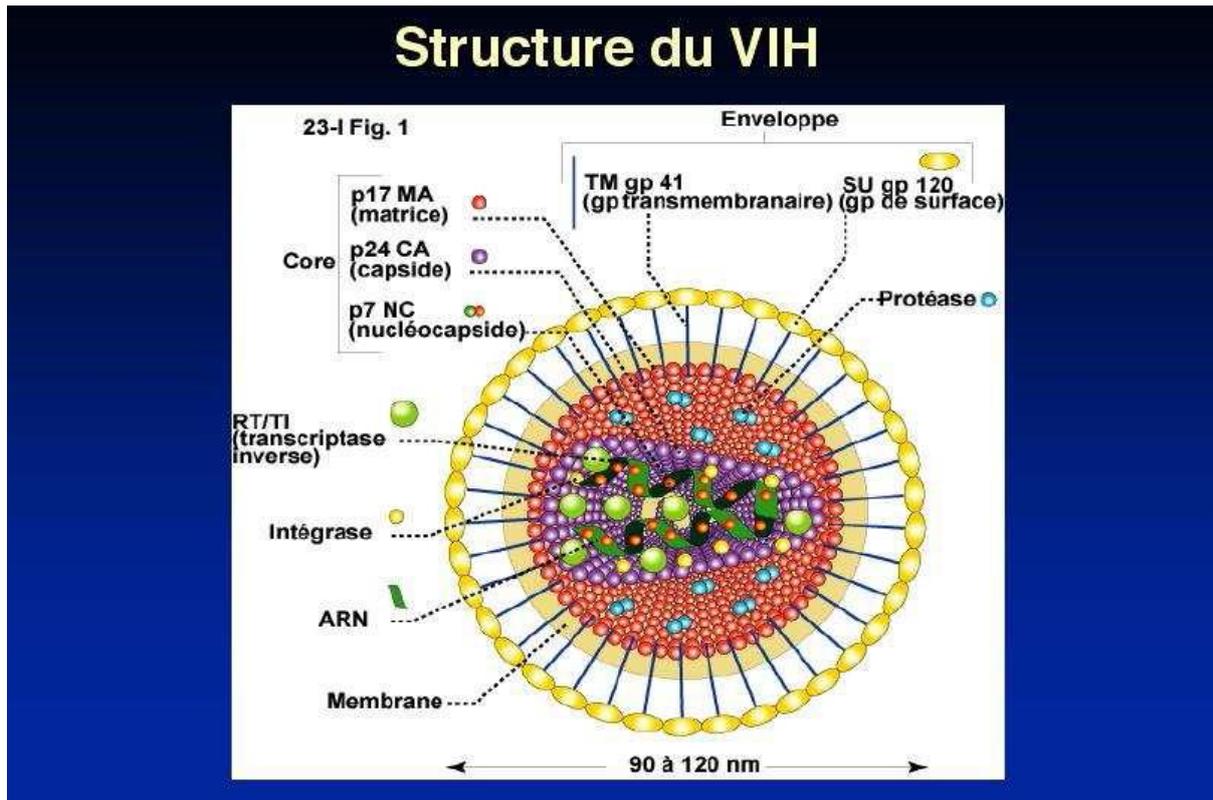


Figure 1: Structure du VIH selon Y. Gille in www.google.fr / rubrique santé/SIDA [9]

2.3.1. Modes de transmission [10-11]

Les 3 modes de transmission du VIH sont: la voie sexuelle, la voie sanguine et la transmission materno-foetale.

2.3.1.1. Transmission sexuelle:

C'est le mode de contamination le plus fréquent: 80% des infections ont été acquises lors de rapports sexuels non protégés avec un(e) partenaire contaminé(e). Pour un rapport vaginal avec un des partenaires séropositifs, le risque de transmission est évalué à moins de 0,1 %.

Ce risque est augmenté par certains facteurs: partenaire avec une charge virale élevée et (ou) un SIDA déclaré, partenaire en phase de primo-infection, présence de lésions génitales, de maladie sexuellement transmissible (MST), rapport anal, rapport réceptif, nombre élevé de partenaires. Toutefois, un seul contact sexuel, même sans aucun facteur de risque accru, peut être contaminant.

La contamination dans le sens homme-femme serait plus importante que dans le sens femme-homme.

Des cas de contamination après rapport oro-génital ont été décrits.

2.3.1.2. Transmission sanguine:

Elle concerne 4 groupes de populations: les transfusés, les hémophiles, les toxicomanes intraveineux, les professions médicales et paramédicales.

La contamination par échange de seringues chez les toxicomanes est le principal mode de transmission après la transmission sexuelle.

La transmission par transfusion sanguine et administration de dérivés sanguins est actuellement extrêmement limitée par les mesures de sécurité transfusionnelle. Le dépistage des donneurs de sang est obligatoire en France depuis juillet 1985 et a permis d'obtenir un risque résiduel inférieur à 1 pour 600 000 unités de sang. Ce risque est lié aux donneurs en phase de séroconversion, encore séronégatifs. On peut en rapprocher la transmission au cours des dons d'organe ou de sperme qui donnent lieu à un dépistage obligatoire.

La transmission accidentelle par inoculation chez le personnel soignant en cas d'accident d'exposition au sang est estimée à 0,3 %. On dénombre en France à ce jour 13 contaminations professionnelles documentées et 29 présumées. Des cas exceptionnels de contamination de patients par des professionnels de santé porteurs du VIH (chirurgien, dentiste) ont également été rapportés.

2.3.1.3. Transmission materno-fœtale:

Le taux de transmission de la mère à l'enfant en l'absence de traitement est de 20 %. Il est de 5% avec le traitement par azidothymidine (AZT) en cours de grossesse.

La transmission a lieu essentiellement dans la période périnatale (1/3 des cas pendant le 3e trimestre, 2/3 des cas au cours de l'accouchement). Le risque de transmission par allaitement maternel est estimé à 10 %. Le risque de transmission materno-foetale augmente si la mère est à un stade avancé de l'infection, si le taux de lymphocytes CD4 est faible, si la charge virale plasmatique est élevée.

2.3.2. PREVENTION DE LA TRANSMISSION DU VIH [12]

- Utilisation de préservatifs au cours des rapports sexuels avec toute personne séropositive ou dont le statut sérologique n'est pas connu.
- Utilisation de seringues à usage unique chez les usagers de drogues et prise en charge de ces derniers avec accès à des programmes de sevrage et traitement substitutif des opiacés le cas échéant.
- Protection des personnels de santé contre les contaminations : port de gants, de masques et de lunettes lors des examens invasifs, protection contre les piqûres accidentelles (interdiction du recapuchonage des aiguilles utilisées, conteneurs rigides pour les aiguilles usagées, incinération du matériel de prélèvement).
- En cas de piqûre ou de contamination cutanée infectante, prise en charge immédiate de ces accidents d'exposition au sang:
 - nettoyage prolongé par l'alcool à 70 ° ou l'eau de Javel à 0,1 % ;
 - chimio prophylaxie par les antirétroviraux.
- Allaitement protégé des nourrissons en cas de séropositivité de la mère (prescription d'un traitement ARV chez la mère durant l'allaitement).
- Information des sujets séropositifs sur les risques de transmission du VIH.
- Information des femmes séropositives sur les risques de transmission en cas de grossesse et mise en place d'une chimio prophylaxie à partir du 2e trimestre.
- Encouragement à la démarche du test de dépistage chez les personnes à risque et, proposition du test devant des symptômes des stades cliniques OMS.
- Dépistage des donneurs de sang et politique générale d'amélioration de la sécurité transfusionnelle.
- Promotion du dépistage dans le respect de la confidentialité des résultats, de la non-stigmatisation des personnes dites à risques, en donnant accès à une filière de prise en charge.

2.3.3 PHYSIOPATHOLOGIE:

L'infection par le VIH /SIDA est caractérisée par une réplication continue d'un virus très variable dans les tissus lymphoïdes (LTCD4+). Le cycle de réplication du VIH a été divisé en plusieurs étapes schématisé en **figure 2**.

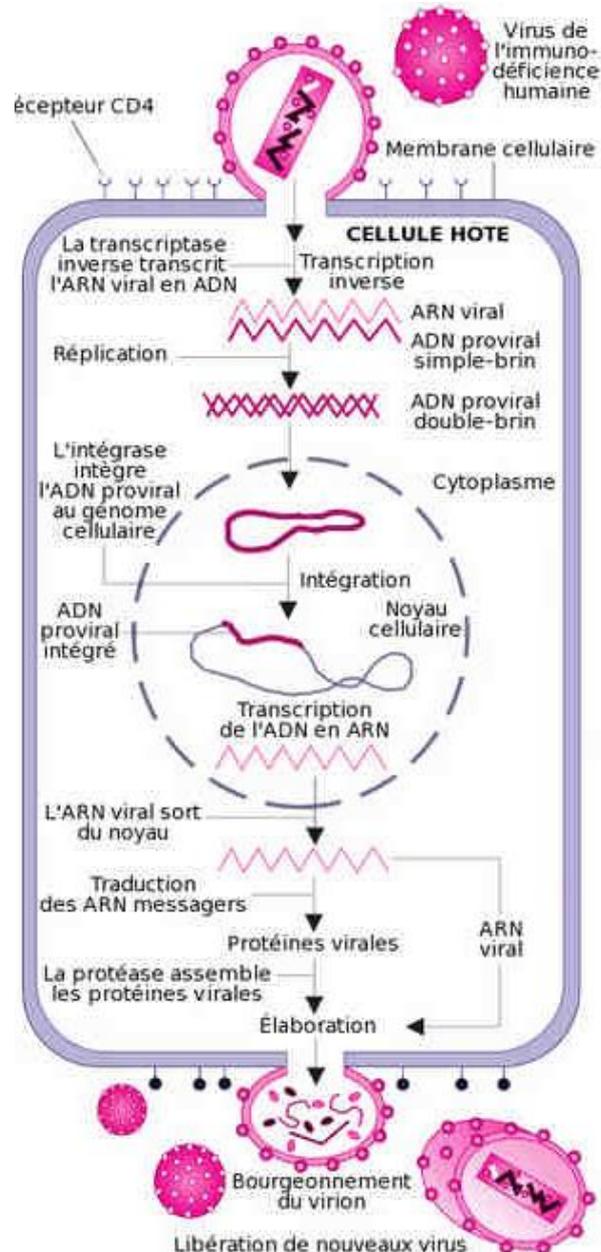


Figure 2: Cycle de réplication du virus de l'immunodéficience humaine [13]

L'installation d'un déficit immunitaire cellulaire est inexorable chez plus de 90 % des patients. La vitesse de progression vers un déficit immunitaire sévère est variable et déterminée principalement par les caractéristiques génétiques de l'hôte et, possiblement, par des facteurs environnementaux dont l'exposition à des

antigènes bactériens et parasitaires [14]. A la phase tardive de l'infection (SIDA), l'on assiste à une augmentation de la charge virale suivie de la chute de LTCD4 [15].

2.3.4. DIAGNOSTIC DE L'INFECTION PAR VIH

2.3.4.1. Diagnostic clinique:

La primo-infection est la phase initiale et aiguë de la maladie. Elle survient 2 à 3 semaines après le contact infectant. Elle est symptomatique dans 60% des cas. Bien que des symptômes (fièvre, polyadénopathie, angine, éruption fruste de quelques jours) puissent être observés lors de la primo infection, il est exceptionnel que le diagnostic soit évoqué à ce stade précoce en régions tropicales [14 ;15]. La banalité de ces symptômes spontanément régressifs en 1 à 2 semaines, rarement au complet et les causes multiples pouvant leur être attribuées font qu'ils sont le plus souvent ignorés par le patient et les soignants ou mis sur le compte d'une infection endémique telle qu'une arbovirose ou un accès palustre [14]. Une polyadénopathie généralisée (ganglions de petites tailles et mobiles) persiste le plus souvent pendant plusieurs années avant que ne surviennent des infections dites mineures dont seules la récurrence et parfois la persistance pourraient suggérer une infection sous-jacente par le VIH [14].

Le diagnostic clinique se fait sur la base des différentes classifications citées ci-dessous [16]:

- Classification de Bangui ;
- Classification des CDC en 4 groupes cliniques I, II, III et IV ;
- Classification européenne en 3 catégories clinique A, B et C ;
- Classification de l'OMS en 4 stades cliniques 1, 2, 3 et 4.

La classification OMS des stades du marqueur VIH indique les manifestations les plus souvent observées et les regroupe selon 4 stades de sévérité croissante. La survenue de ces manifestations permet conjointement à la numération des lymphocytes CD4 (quand elle est disponible), de définir le stade évolutif du déficit

immunitaire et d'orienter la prise en charge thérapeutique [14 ; 17]. Ainsi cette classification se compose comme suit:

- ❖ **Stade clinique 1:** Patient asymptomatique, adénopathies persistantes généralisées. *Degré d'activité:* activité normale
- ❖ **Stade clinique 2:** perte de poids < 10 % du poids corporel, Zona (au cours des 5 dernières années), manifestations cutanéomuqueuses mineures (dermite séborrhéique, prurigo, ulcérations buccales, chéilite angulaire), infections récidivantes des voies aériennes supérieures.
Degré d'activité: patient symptomatique, activité normale
- ❖ **Stade clinique 3:** Perte de poids > 10 % du poids corporel, diarrhée inexpliquée > 1 mois, fièvre prolongée > 1 mois, candidose buccale, leucoplasie orale chevelue, tuberculose pulmonaire au cours de l'année précédente, Infection bactérienne sévère.
Degré d'activité: patient alité moins de 50 % du temps ;
- ❖ **Stade clinique 4:** Syndrome cachexisant du au VIH, pneumocystose, toxoplasmose cérébrale, Cryptosporidiose avec diarrhée > 1 mois, cryptococcose extra-pulmonaire, Cytomégalovirus, Herpes virose cutanéomuqueuse > 1 mois ou viscérale, leucoencéphalite multifocale progressive, trachéale, bronchique ou pulmonaire, mycobacteriose atypique disséminée, tuberculose extra pulmonaire, lymphome malin, sarcome de Kaposi, encéphalopathie à VIH.
Degré d'activité: patient alité plus de 50 % du temps

2.3.4.2. Diagnostic biologique:

On distingue deux types de méthodes pour le diagnostic biologique de l'infection à VIH : méthode indirecte et directe.

2.3.4.2.1. Méthode indirecte:

Le diagnostic indirect ou sérologique, fondé sur la détection des anticorps reste, dans la majorité des cas, l'approche diagnostic la plus pertinente et la plus accessible.

Les méthodes de référence pour la visualisation de la réaction Ag-Ac sont actuellement:

- les méthodes immuno-enzymatiques de type ELISA. La méthode ELISA dure seulement quelques heures et donne des résultats reproductibles, elle est automatisable [18] ;

-tests rapides, facilement réalisables et qui ne demandent pas de moyens sophistiqués : les résultats sont obtenus plus rapidement que l'ELISA par simple lecture à l'œil nu. Cependant, aussi performants qu'ils sont pour les anticorps anti-VIH-1 et anti-VIH-2 au cours de la phase chronique de l'infection, ils n'offrent pas d'une manière générale le même niveau de sensibilité que les tests ELISA de troisième et quatrième génération au cours de la primo-infection. Leur avantage est leur usage dans les situations d'urgences et, du fait qu'ils différencient généralement les VIH-1 et VIH-2.

❖ ELISA: [19]

Principe: Les tests ELISA sont des réactions immuno-enzymatique en phase solide utilisant des antigènes sélectionnés capable de se fixer aux anticorps spécifiques. L'interaction Ag-Ac est révélée par une coloration résultant de l'action d'un substrat sur une enzyme.

La méthode ELISA permet d'utiliser différents types d'antigènes ou anticorps : lysats de virus, protéines virales natives, protéines de recombinaison génétique ou peptides de synthèse.

Ceci permet des sérologies analytiques selon les marqueurs utilisés.

Classification: Les tests ELISA peuvent être classés en fonction de plusieurs critères:

En fonction du support antigénique:

- les tests ELISA de 1ère génération: utilisant des lysats viraux.

-les tests ELISA de 2ème génération: utilisant des protéines recombinantes ou des peptides synthétiques et ne détectent que les Ac de type IgG.

- Les tests ELISA de 3^{ème} génération: utilisent les mêmes antigènes que les tests de 2^{ème} génération mais ils permettent de détecter les anticorps de type IgG et IgM
- les tests de 4^{ème} génération : détectent simultanément les Ac anti-VIH (IgG et IgM) et l'antigène p24. Cette double détection permet de réduire la fenêtre sérologique et permet un dépistage précoce de l'infection.

En fonction du principe de la réaction:

- ELISA indirect,
- ELISA par compétition,
- ELISA par sandwich,

❖ **Tests rapides [18]:**

Le principe est aussi basé sur la réaction antigène-anticorps. Les Ag ou Ac sont fixés au préalable sur le support de réaction. Au cours de la réaction, les Ag ou Ac spécifiques présents dans le sérum ou plasma à tester se lient respectivement aux Ac ou Ag correspondants. La révélation se fait soit par:

- Agglutination: les Ac spécifiques se fixent aux Ag formant des ponts entre eux permettant leur union en amas que l'on voit à l'œil nu.
- Immuno-marquage: dans cette réaction les complexes Ag-Ac sont révélés par un chromogène permettant de les voir à l'œil nu.

❖ **Les tests de confirmation VIH:**

• **La radio – immuno-precipitation (RIPA) [18] :**

Principe: Utiliser un virus marqué par un isotope radioactif (en général la cystéine 35). Le lysat viral contenant les antigènes à l'état natif est incubé avec le sérum à tester. Les complexes immuns formés sont alors captés sur un support d'affinité tel que des billes de protéine Asepharose. Les antigènes viraux retenus par les anticorps spécifiques sont ensuite élus et séparés en fonction de leur poids moléculaire sur le gel de polyacrylamide. La révélation est effectuée par autoradiographie.

Cette technique met en évidence préférentiellement des anticorps dirigés contre les protéines d'enveloppe et de ce fait elle constitue un apport complémentaire d'informations pour les échantillons sériques d'interprétation délicate en Western Blot. La RIPA est un test de confirmation très sensible réservé à des laboratoires agréés.

- **LE Western Blot [20]:**

PRINCIPE

Après fragmentation d'une culture de virus, les protéines virales sont séparées par électrophorèse en gel d'agarose dans lequel elles vont migrer en fonction de leur poids moléculaire: les grosses molécules (gp 160, gp 120) migrant moins facilement que les petites (gp 41, p 17).

On transfère les protéines séparées en "buvardant" le gel (*to blot* = buvarder) avec une feuille de nitrocellulose. Cette feuille est découpée en bandelettes.

On immerge une bandelette dans un petit bac contenant le sérum à contrôler: si ce sérum contient des anticorps spécifiques du VIH, ils se fixent aux antigènes.

La fixation des anticorps est révélée par une technique d'ELISA identique à celle utilisée pour le test de dépistage: on ajoute un anticorps anti-Ig humain marqué par une enzyme puis le substrat de cette enzyme.

Une bande colorée apparaît pour chaque protéine virale sur laquelle s'est fixé un anticorps.

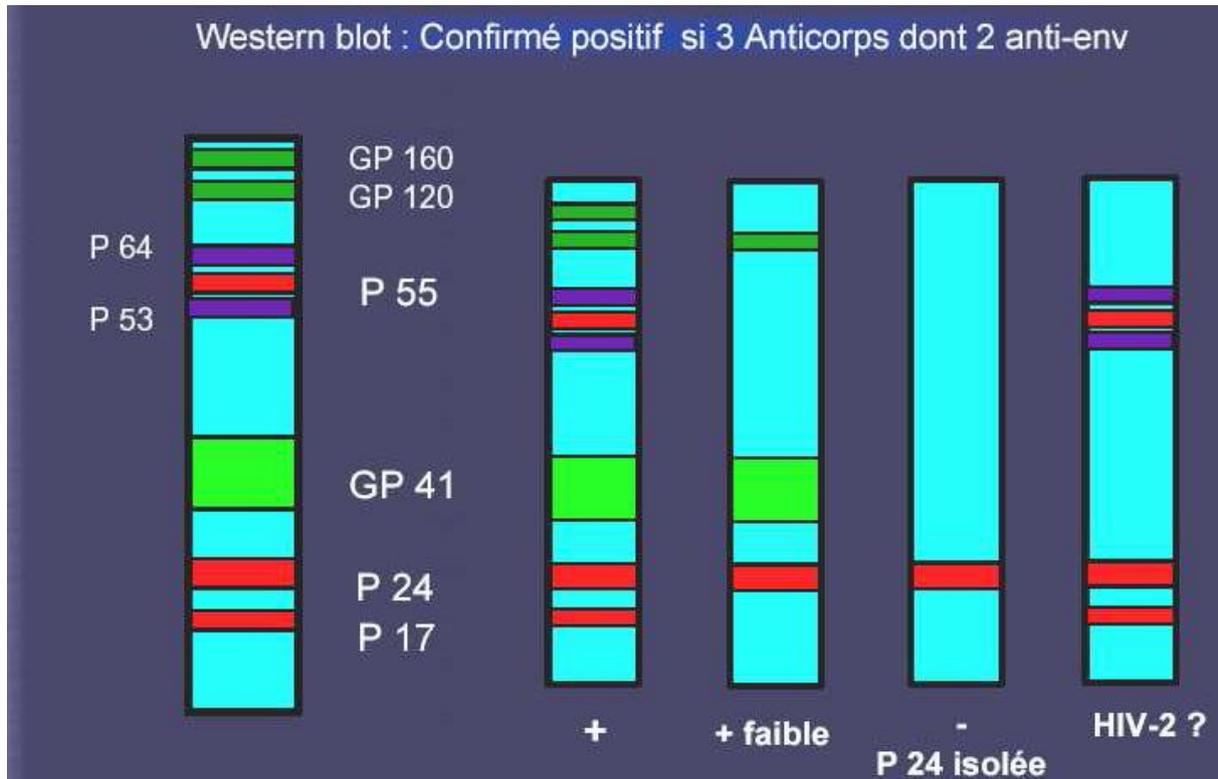


Figure 3: western blot confirmé positif Source: western blot bandelette HIV .pdf

Tableau II: Critères d'interprétation du Western Blot positif selon les différentes institutions:

ORGANISATIONS	CRITERES D'INTERPRETATION
Association of state and territorial Public Health Laboratory Directors/ Centers for Disease Control (ASTPHLD1/CDC), 1989 USA	Au moins 2 bandes parmi -P24 -gp 41 -gp120/gp160
Centre National de transfusion sanguine:	Deux bandes ENV(2) avec GAG ou POL
Croix rouge américaine 1988 USA:	GAG, POL et ENV
Consortium pour la Standardisation des tests sérologiques sur rétrovirus (CRSS) 1988 USA	Une bande ENV avec p24 ou p31
Organisation Mondiale de la santé (OMS) 1990	Deux bandes ENV avec ou sans les bandes GAG ou POL
Chinese Center for Disease Control and Prevention (CCDCP) 2004 Chine:	Deux bandes ENV ou une bande ENV avec P24
National and State Reference Laboratoires (NRL) 1987 Australie.	Une bande ENV avec au moins une des bandes GAG ou POL
Société allemande de lutte contre les maladies virales (DVV)	Une bande ENV avec au moins une bande GAG ou POL

2.3.4.2.2. Méthode directe [21]:

❖ La détection de l'antigène du virus

PRINCIPE: C'est une méthode ELISA. Les anticorps d'un sérum polyclonal fixés sur le fond des puits d'une microplaque ou sur des billes de polystyrène sont mis en présence du sérum à tester et se lient à l'antigène viral au cas où il serait présent. On réalise plusieurs lavages. La présence de l'antigène est révélée par des anticorps anti-VIH de lapin ou de chèvre marqués par une enzyme. On dit que l'antigène est pris en sandwich.

La présence de la coloration spécifique du produit de la réaction enzymatique et l'intensité de la coloration permet une quantification de cet antigène. En pratique c'est essentiellement la protéine p24 qui est mise en évidence. La sensibilité est faible mais utile pour la mise en évidence précoce du virus.

❖ La réaction de polymérisation en chaîne (PCR)

C'est une technique de détection qui consiste à amplifier artificiellement la molécule à détecter afin de simplifier sa détection. Elle peut s'appliquer à l'ARN du virus et dans ce cas elle est appelée NASBA (nucleic acid séquence base amplification) ou à la retro transcriptase (RT-PCR). C'est actuellement la méthode de référence de diagnostic rapide.

❖ L'isolement viral

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

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

PRINCIPE

Les cellules de culture sont séparées des autres cellules sanguines par une centrifugation sur un gradient de densité, puis après lavage, mises en suspension dans un milieu de culture riche contenant en particulier de l'interleukine 2, un facteur de croissance indispensable pour les lymphocytes, et des substances favorisant l'infection virale tels que le polybiène et le sérum anti-interféron.

La stimulation initiale des cellules se fait avec la phytohémagglutinine (PHA).

Quand le nombre des cellules fournies par le sujet suspect d'infection est trop faible, il faut leur adjoindre des cellules venant d'un sujet non infecté, ce qui aboutit à une co-culture de lymphocytes. Les cultures cellulaires sont entretenues et étudiées pendant 4 à 6 semaines.

La multiplication du VIH se traduit par l'apparition d'un effet cytopathique constitué de cellules géantes multinuclées résultant d'une fusion lymphocytaire, mais cet effet cytopathique est fugace et inconstant. La mise en évidence du virus repose en fait sur l'étude du surnageant de culture dans lequel on peut détecter l'antigène viral par diverses techniques dont l'ELISA, la PCR et la mise en évidence d'une enzyme spécifique des rétrovirus, la transcriptase inverse.

2.4. Cinétique des anticorps [22]

Une bonne connaissance de la cinétique des anticorps et de l'antigène p24 est indispensable à l'interprétation des tests VIH. La *figure ci-après* résume les différentes situations. Après la contamination, le virus est détectable, sous sa forme d'acide ribonucléique (ARN) dès le 10-12e jour et sous sa forme d'antigène p24 représentant juste une fraction du virus, vers le 12-14e jour. Les premiers anticorps sont détectables vers le 21e jour.

Cette cinétique peut varier en fonction de chaque patient et aussi de la souche infectante. La positivité des tests de dépistage dépend donc de l'apparition des anticorps. Actuellement, les tests de dépistage utilisés sont le plus souvent capables de détecter, en plus des anticorps, simultanément, la fraction "antigène p24". L'utilisation de ces tests raccourcit donc la période de "silence" sérologique lors de la primo-infection. Une fois produits par la réponse immune, les anticorps anti-VIH persisteront toute la vie du patient.

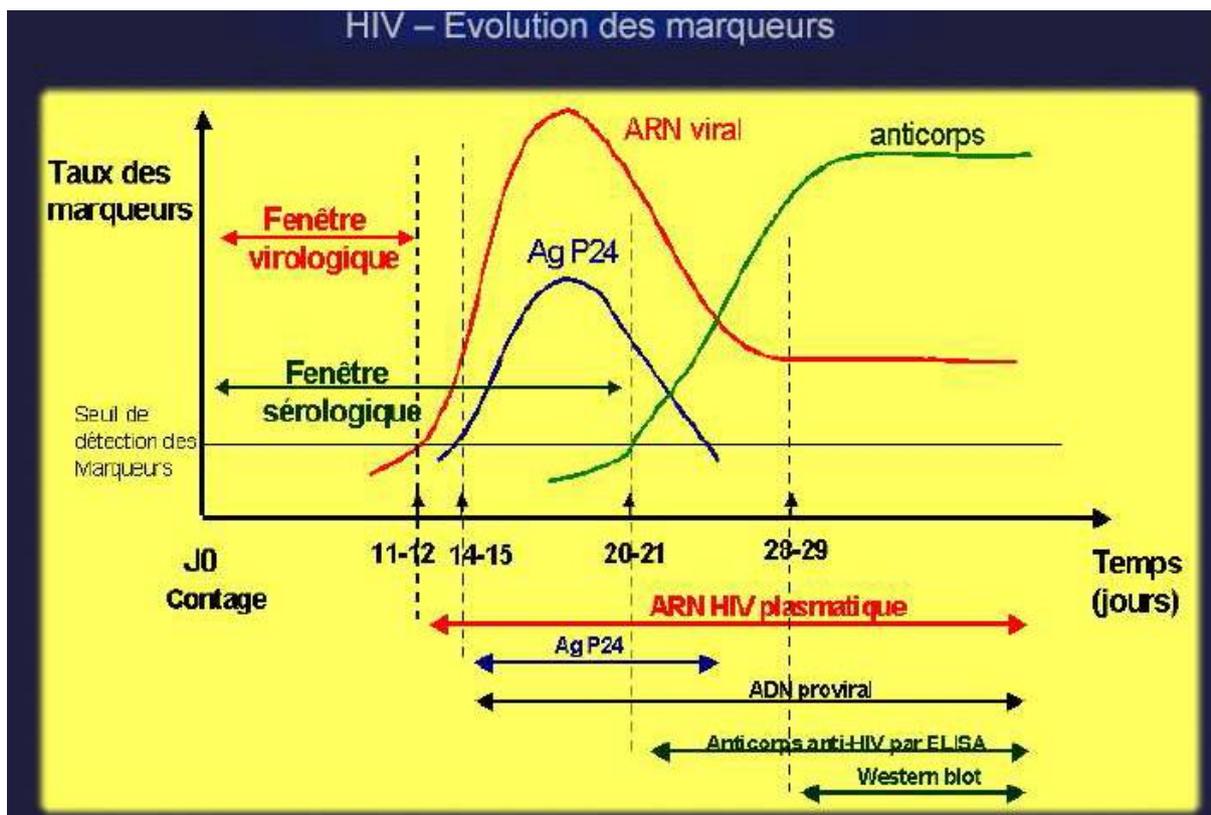


Figure 4: Evolution des marqueurs.

Source: <http://documentation.ledmed.org/IMG/html/doc-10797.html>[22]

3. Méthodologie

3.1. Cadre et lieu d'étude:

La présente étude a été effectuée au laboratoire du Centre National de Transfusion Sanguine de Bamako. Ce Centre, créé par l'ordonnance 041/PRM du 20 septembre 2000, ratifiée par la loi N°01-027 du 01 juin 2001, est un établissement à caractère scientifique et technologique de référence en matière de la transfusion sanguine ayant pour mission de collecter, conditionner, conserver le sang humain et ses dérivés.

Il est situé à Quinzambougou en commune II du district de Bamako, le CNTS comprend cinq (05) départements:

- Département Administration générale
- Département Comptabilité Générale,
- Département Laboratoire,
- Département formation et recherche,
- Département promotion, collecte, conservation et distribution des produits sanguins.

Le centre dispose de deux équipes de collectes mobiles formées chacune d'un médecin, d'un assistant médical, deux (02) infirmiers préleveurs et d'un chauffeur.

3.2. Type et période d'étude:

Il s'agit d'une étude prospective transversale qui s'est déroulée du 1^{er} décembre 2016 au 31 août 2017 soit une durée totale de 09 mois.

3.3. Population d'étude et Echantillonnage:

Notre population d'étude est composée de 834 sérums provenant des donneurs de sang sélectionnés selon deux critères:

3.3.1. Critères d'inclusion:

- ✓ Etre donneur de sang et remplissant les critères pour un don de sang ;
- ✓ Avoir donné son consentement pour le don de sang et pour l'étude.

3.3.2. Critères de non inclusion:

- ✓ Donneur refusant de donner son consentement ;
- ✓ Tous les sérums indéterminés (ni négatifs, ni positifs en Ag et Ac).

3.4. Définitions opérationnelles:

Le don de sang est un acte au cours duquel un donneur se voit prélever une quantité de sang qui sera traité et stocké avant d'être transfusé à un malade.

- **Donneur familial:** Donneur qui donne son sang à la demande d'un membre de la famille ou de la communauté du patient. Il est recruté uniquement en cabine fixe.
- **Donneurs volontaires:** Recrutés en cabine fixe et mobile, ils sont de trois(03) types:
 - Nouveau-donneur:** Donneur volontaire non rémunéré n'ayant encore jamais donné son sang.
 - Donneur volontaire régulier:** Donneur volontaire non rémunéré qui donne son sang de façon régulière (trois fois pour les femmes, quatre fois pour les hommes).
 - Donneur occasionnel:** Donneur volontaire non rémunéré qui donne son sang a un intervalle non régulier.

3.5. Circuit du donneur et du sang:

Un candidat au don de sang ayant un âge compris entre 18-60 ans et pesant plus de 55 kg doit faire systématiquement l'objet d'enregistrement avec un numéro. Il passe ensuite à la sélection médicale à l'issue de laquelle le médecin le jugera apte ou pas au don. Au cours de l'entretien médical, il répondra à un questionnaire médical l'interrogeant sur son état de santé, ses comportements à risque, ses antécédents médicaux et chirurgicaux, qu'il signera à la fin de la sélection médicale.

S'il répond aux critères, un prélèvement de 450 ml est effectué dans une poche et sur deux tubes **BD vacutainer** de 4 ml distincts:

- L'un contenant un anticoagulant (EDTA) destiné au groupage,
- Et l'autre sec servant à la réalisation des analyses sérologiques.

A la fin du don, le donneur reçoit une collation qu'il prendra sur place sous surveillance d'un agent de santé.

Les poches de sang ainsi que les tubes sont conservés au frais entre 2° C et 6°C avant la réalisation des bilans biologiques (Dépistage de VIH, Ag HBs, Ac-HCV, BW et le groupage sanguin). Les poches recueillies lors des collectes mobiles sont placées dans des conteneurs isothermes à une température de +2°C à +8°C hermétiquement fermés, et sont acheminées dans les 4 heures qui suivent le prélèvement de la première poche au CNTS.

3.6. Variables mesurées:

3.6.1. Variables expliquées:

- Genscreen ULTRA Ag/Ac.

3.6.2. Variables explicatives:

- Murex HIV combinaison Ag/Ac
- Apdia HIV Ag/Ac

3.7. Techniques biologiques utilisées:

3.7.1. Matériels:

Les matériels utilisés sont:

- Un papier absorbant ;
- Des gants ;
- Des éprouvettes graduées de 10, 200, 1000 ml ;
- Des pipettes de 50, 100, 200 et 1000 ;
- Des agitateurs ;
- Un chronomètre ou une montre ;
- Un système de lavage automatique ;
- Un incubateur sec de micro plaques ;
- Des conteneurs de déchets contaminés
- Un spectrophotomètre (PR 2100).

3.7.2. Présentation des tests:

- Genscreen[®] ULTRA HIV Ag-Ab (BIO-RAD France)
- Murex Combo Ag/Ac (Abbott)
- Apdia HIV Ag-Ab (Abbott)

Principes des tests de sérologie

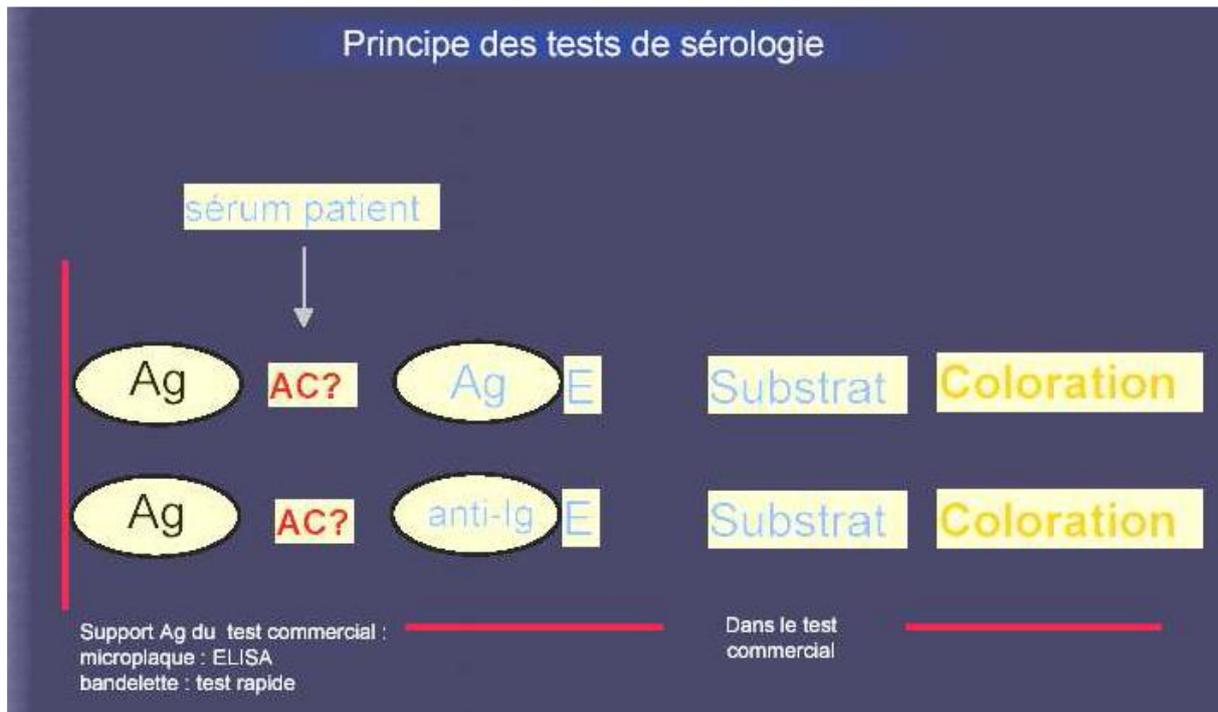


Figure 5: Principe des tests de sérologie

[Http: // documentation.ledmed.org/IMG/html/doc-10797](http://documentation.ledmed.org/IMG/html/doc-10797) [22]

3.7.2.1. **Genscreen® ultra HIV Ag-Ab (BIO-RAD France):**

Principe: **Genscreen® ultra HIV Ag-Ab** est une technique immuno-enzymatique basée sur le principe de sandwich pour la détection de l'antigène VIH et des différents anticorps associés aux virus VIH1 et/ou VIH2, dans le sérum ou plasma humain. **Genscreen® ultra HIV Ag-Ab** repose sur l'utilisation d'une phase solide préparée avec:

- des anticorps monoclonaux dirigés contre l'antigène p24 du VIH1.
- des antigènes purifiés : une protéine gp 160 recombinée, un peptide synthétique mimant un épitope spécifique du virus VIH 1 groupe O totalement artificiel (c'est à dire codé par aucun virus existant) ainsi qu'un peptide mimant l'épitope immunodominant de la glycoprotéine d'enveloppe du virus VIH2.

Mode opératoire:

Utiliser les sérums de contrôle négatif (R3), contrôle positif Ac VIH (R4) et contrôle Ag VIH positif (R5) à chaque mise en œuvre du test pour valider la qualité du test.

Appliquer les bonnes pratiques de laboratoire :

1. Etablir soigneusement le plan de distribution et d'identification des échantillons
2. Préparer la solution de lavage diluée
3. Préparer la solution de travail du conjugué 2
4. Sortir le cadre support et les barrettes (R1) de l'emballage protecteur
5. Déposer directement, sans prélavage de la plaque, successivement (plan de plaque conseillé):

5.1 25 µl de conjugué 1 (R6) dans chaque cupule

5.2 75 µl de contrôle positif Ag VIH (R5) en A1

75 µl de contrôle positif anticorps VIH (R4) en B1

75 µl de contrôle négatif (R3) en C1, D1 et E1

75 µl du premier échantillon en F1,

75 µl du deuxième échantillon en G1, etc.

Homogénéiser le mélange par trois aspirations minimums avec la pipette de 75µl ou en agitant la microplaque après l'étape de pipetage.

Couvrir d'un film autocollant en appuyant bien sur les bords pour assurer l'étanchéité.

Incuber la microplaque dans un incubateur sec de microplaques pendant 01h ±4 minutes à 37±1°C.

Retirer le film adhésif, laver la plaque à l'aide du laveur automatique de microplaques jusqu'à 5 fois.

Distribuer 100µl de conjugué dans toutes les cupules. Le conjugué doit être agité avant emploi.

Recouvrir d'un film autocollant neuf et incuber 30± 4 minutes à la température ambiante (18-30°).

Retirer le film adhésif ; laver 5 fois à l'aide du laveur automatique.

Distribuer rapidement dans toutes les cupules 80µl de la solution de révélation de l'activité enzymatique préalablement préparée.

Laisser la réaction se développer à l'obscurité pendant 30±4 minutes à la température ambiante. Lors de cette incubation, ne pas utiliser de film adhésif.

Ajouter 100µl de la solution d'arrêt dans les cupules.

Essuyer soigneusement le dessous des plaques. Lire la densité optique à 450-620 nm à l'aide d'un lecteur de plaques, dans les 30 minutes qui suivent l'arrêt de la réaction.

Calcul et interprétation des résultats:

La présence ou l'absence d'antigène VIH ou d'anticorps anti-VIH1 et/ou anti-VIH2 détectable est déterminée en comparant pour chaque échantillon l'absorbance enregistrée à celle de la valeur seuil calculée.

- Calculer la moyenne des absorbances du contrôle négatif (DO R3)

$$DO R3 = DO (C1) + DO (D1) + DO (E1) / 3$$

-Calcul de la valeur seuil

La valeur seuil sera déterminée par la formule suivante :

$$VS = DO R3 + 0.200$$

-Validation de l'essai

L'absorbance de chaque contrôle négatif (R3) doit être inférieure à 0,170: $DO (R3) < 0,170$

Il est possible d'éliminer au plus une valeur individuelle aberrante du contrôle négatif si sa densité optique se situe en dehors de la norme précédente. Dans ce cas, lorsque la valeur aberrante a été éliminée, refaire le calcul de la moyenne du contrôle négatif avec les deux valeurs restantes.

La moyenne des absorbances des contrôles négatifs doit être inférieure à 0,150: $DO R3 < 0,150$.

L'absorbance du contrôle positif anticorps VIH (R4) doit être supérieure à 0,9: $DO (R4) > 0,9$.

L'absorbance du contrôle positif Ag VIH (R5) doit être supérieure à 0,9: DO (R5) > 0,9.

Interprétation des résultats:

Les échantillons dont les absorbances sont inférieures à la valeur seuil sont considérés négatifs d'après le test **Genscreen® ultra HIV Ag-Ab**.

Toutefois, les résultats situés juste au-dessous de la valeur seuil ($VS - 10\% < DO < VS$) doivent être interprétés avec prudence et il est conseillé de tester de nouveau les échantillons correspondants en double lorsque les systèmes utilisés et les procédures du laboratoire le permettent).

Les échantillons dont les absorbances sont égales ou supérieures à la valeur seuil sont considérés initialement positifs d'après le test **Genscreen® ultra HIV Ag-Ab**. Ils doivent être contrôlés de nouveau en double avant l'interprétation finale.

Si après répétition de l'essai, pour un échantillon, l'absorbance des 2 doublets est inférieure à la valeur seuil, le résultat initial est non reproductible et l'échantillon est déclaré négatif selon le test **Genscreen® ultra HIV Ag-Ab**.

Limites du test:

De faibles taux d'antigène ou d'anticorps peuvent ne pas être détectés lors d'infection récente, en conséquence un résultat négatif signifie que l'échantillon contrôlé ne contient pas d'antigène VIH ou d'anticorps anti-VIH détectable par le test **Genscreen® ultra HIV Ag-Ab**. Un tel résultat n'exclut pas la possibilité d'une infection VIH1/VIH2.

La variabilité des virus VIH1 (groupe M, groupe O) et VIH 2 ne permet pas d'exclure la possibilité de réactions faussement négatives. Aucune méthode connue ne peut offrir l'assurance que le virus VIH est absent.

Toute technique ELISA hautement sensible peut produire des réactions faussement positives.

Afin de vérifier la spécificité de la réaction, tout échantillon trouvé positif reproductible (selon les critères d'interprétation de la trousse Genscreen® ultra HIV Ag-Ab) doit être confirmé par une méthode appropriée (par utilisation d'un

test spécifique de dépistage des antigènes VIH, comme le test Genetic System HIV Ag EIA puis neutralisation pour prouver la présence d'antigène VIH ou par Western-Blot pour prouver la présence d'anticorps anti-VIH).

3.7.2.2. Murex HIV Ag/Ac Combinaison

Principe du test:

Le Murex HIV Ag/ab combinaison est un test sur support microplaque dont les cupules sont recouvertes d'un peptide synthétique représentatif de régions immunodominantes du VIH-1 (groupe O) et du VIH-2, d'une protéine recombinante dérivée des protéines d'enveloppe du VIH-1 et du VIH-2 et d'une protéine codée par le gène Pol du VIH avec des anticorps monoclonaux dirigés contre la protéine P24 du VIH-1. Le conjugué est un mélange des mêmes épitopes d'antigène et de différents anticorps monoclonaux également dirigés contre la p24, tous marqués à la peroxydase raifort.

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

Lors de l'étape suivante, le conjugué est ajouté et se lie à tout antigène core du VIH et/ou aux anticorps spécifiques déjà liés aux réactifs sur la cupule.

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

Les cupules ayant fixé le conjugué développent alors une couleur bleue/verte qui vire à l'orange et peut être lue à 450 nm une fois que la réaction est stoppée par l'acide sulfurique.

Mode opératoire:

Utiliser les sérums de contrôle négatif (R3), contrôle positif Ac VIH (R4) et contrôle Ag VIH positif (R5) à chaque mise en œuvre du test pour valider la qualité du test.

Appliquer les bonnes pratiques de laboratoire :

1. Etablir soigneusement le plan de distribution et d'identification des échantillons
2. Préparer la solution de lavage diluée
3. Préparer la solution de travail du conjugué 2
4. Sortir le cadre support et les barrettes (R1) de l'emballage protecteur
5. Déposer directement, sans prélavage de la plaque, successivement (plan de plaque conseillé):

5.1 25 µl de conjugué 1 (R6) dans chaque cupule

5.2 75 µl de contrôle positif Ag VIH (R5) en A1

75 µl de contrôle positif anticorps VIH (R4) en B1

75 µl de contrôle négatif (R3) en C1, D1 et E1

75 µl du premier échantillon en F1,

75 µl du deuxième échantillon en G1, etc.

Homogénéiser le mélange par trois aspirations minimums avec la pipette de 75µl ou en agitant la microplaque après l'étape de pipetage.

Couvrir d'un film autocollant en appuyant bien sur les bords pour assurer l'étanchéité.

Incuber la microplaque dans un incubateur sec de microplaques pendant 01h ±4 minutes à 37±1°C.

Retirer le film adhésif, laver la plaque à l'aide du laveur automatique de microplaques jusqu'à 5 fois.

Distribuer 100µl de conjugué dans toutes les cupules. Le conjugué doit être agité avant emploi.

Recouvrir d'un film autocollant neuf et incuber 30± 4 minutes à la température ambiante (18-30°).

Retirer le film adhésif ; laver 5 fois à l'aide du laveur automatique.

Distribuer rapidement dans toutes les cupules 80µl de la solution de révélation de l'activité enzymatique préalablement préparée.

Laisser la réaction se développer à l'obscurité pendant 30±4 minutes à la température ambiante. Lors de cette incubation, ne pas utiliser de film adhésif.

Ajouter 100µl de la solution d'arrêt dans les cupules.

Essuyer soigneusement le dessous des plaques. Lire la densité optique à 450-620 nm à l'aide d'un lecteur de plaques, dans les 30 minutes qui suivent l'arrêt de la réaction.

Interprétation des résultats:

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

- Contrôle négatif: la DO moyenne doit être inférieure à 0,15
- Contrôle positif: la DO de chacun des contrôles positifs doit être supérieure à la DO moyenne du contrôle négatif de plus 0,8.

Les tests qui ne correspondent pas à ces critères doivent être recommencés.

La valeur seuil (VS)=DO moyenne + 0,150

***Résultats négatifs**

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

***Résultats positifs**

Les échantillons fournissant une DO supérieure ou égale à la VS sont considérés comme initialement réactifs dans le test. De tels échantillons doivent être ré-analysés en double en utilisant l'échantillon original. Les échantillons réactifs de manière reproductible par le test **Murex HIV Ag/Ab** combinaison et présumés contenir l'antigène core du VIH et/ou des anticorps anti- VIH1 et VIH2.

De tels échantillons doivent faire l'objet d'analyses supplémentaires et la présence de l'antigène et/ou d'anticorps anti-VIH doit être confirmée par d'autres tests. Par contre, les échantillons non réactifs de manière reproductible sont considérés comme négatifs pour l'antigène core du VIH et pour les anticorps anti-VIH.

Remarque:

-Les valeurs de DO significativement supérieures au contrôle négatif peuvent être obtenues avec les cupules ayant reçu tous les réactifs mais, ayant été sautés l'étape d'addition des échantillons.

Limites du test:

Le test **Murex HIV Ag/Ab** combinaison doit être effectué uniquement sur des échantillons de sérum ou de plasma individuel. Le test n'a pas été validé pour une autre utilisation.

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

Un test positif par **Murex HIV Ag/Ab** combinaison doit être confirmé par au moins un autre test.

Des résultats réactifs non reproductibles peuvent être obtenus avec toute procédure EIA.

3.7.2.3. Apdia HIV Ag-Ab:

Principe du test:

Les antigènes représentant les épitopes de la gp41 du VIH-1 et gp36 du VIH-2 sont adsorbés sur microplaque avec anticorps monoclonaux contre p24 VIH-1. Échantillon de sérum ou de plasma est ajouté dans le puits et si les anticorps spécifiques pour le VIH-1 et/ou VIH2 (IgG, IgM ou IgA) sont présents dans l'échantillon, se formera des complexes stables avec des antigènes VIH attachés au puits. L'antigène p24 du VIH-1, le cas échéant se liera à l'anticorps dans le puits et à des anticorps présents dans le diluant pour échantillons de détecteur. Les anticorps sont éliminés par lavage. Les complexes antigène-anticorps stable sont identifiés par l'addition successive des antigènes biotinylé et la peroxydase de raifort (HRP) conjugué streptavidine. Solution de substrat peroxydase est ajoutée et est convertie en un bleu – produit de couleur. Un échantillon positif génère une couleur bleue foncée tout en couleur bleue pâle ou incolores puits indiquent un

échantillon négatif. Ajouter la solution de l'arrêt, la couleur de la solution passera du bleu au jaune.

Densité optique (DO) est mesurée avec un spectrophotomètre (ELISA) à 450 nm longueur d'onde de référence à 450 nm et est proportionnelle à la concentration des anti-VIH1/2-anticorps et le VIH-1 p 24 présente dans l'échantillon.

Mode opératoire:

Utiliser les sérums de contrôle négatif (R3), contrôle positif Ac VIH (R4) et contrôle Ag VIH positif (R5) à chaque mise en œuvre du test pour valider la qualité du test.

Appliquer les bonnes pratiques de laboratoire :

1. Etablir soigneusement le plan de distribution et d'identification des échantillons ;
2. Préparer la solution de lavage diluée ;
3. Préparer la solution de travail du conjugué 1 ;
4. Préparer la solution de travail du conjugué 2 ;
5. Sortir le cadre support et les barrettes (R1) de l'emballage protecteur ;
6. Déposer directement, sans pré-lavage de la plaque, successivement (plan de plaque conseillé):
 - 6.1 25 µl de conjugué 1 (R6) dans chaque cupule ;
 - 6.2 100 µl de contrôle positif Ag VIH (R5) en A1 ;
 - 100 µl de contrôle positif anticorps VIH (R4) en B1 ;
 - 100 µl de contrôle négatif (R3) en C1, D1 et E1 ;
 - 100 µl du premier échantillon en F1 ;
 - 100 µl du deuxième échantillon en G1, etc.

Homogénéiser le mélange par trois aspirations minimums avec la pipette de 100µl ou en agitant la microplaque après l'étape de pipetage :

Couvrir d'un film autocollant en appuyant bien sur les bords pour assurer l'étanchéité :

Incuber la microplaque dans un incubateur sec de microplaques pendant 01h \pm 4 minutes à 37 \pm 1°C :

Retirer le film adhésif, laver la plaque à l'aide du laveur automatique de microplaques jusqu'à 3 fois ;

Distribuer 100 μ l de conjugué 1 dans toutes les cupules. Le conjugué doit être agité avant emploi ;

Recouvrir d'un film autocollant neuf et incuber la microplaque dans un incubateur sec de microplaques pendant 01h \pm 4 minutes à 37 \pm 1°C ;

Retirer le film adhésif, laver la plaque à l'aide du laveur automatique de microplaques jusqu'à 5 fois ;

Distribuer 100 μ l de conjugué 2 dans toutes les cupules. Le conjugué doit être agité avant emploi ;

Recouvrir d'un film autocollant neuf et incuber 30 \pm 4 minutes à la température ambiante (18-30°) ;

Retirer le film adhésif, laver 5 fois à l'aide du laveur automatique ;

Distribuer rapidement dans toutes les cupules 80 μ l de la solution de révélation de l'activité enzymatique préalablement préparée ;

Laisser la réaction se développer à l'obscurité pendant 30 \pm 4 minutes à la température ambiante. Lors de cette incubation, ne pas utiliser de film adhésif ;

Ajouter 100 μ l de la solution d'arrêt dans les cupules ;

Essuyer soigneusement le dessous des plaques. Lire la densité optique à 450-620 nm à l'aide d'un lecteur de plaques, dans les 30 minutes qui suivent l'arrêt de la réaction.

Interprétation:

- Spécimens avec des valeurs d'absorbance inférieure à la valeur seuil sont considérés comme non réactifs par les critères de ce test immunologique et peuvent être considérés comme négatif pour les anticorps anti-VIH-1 et VIH-2 et négatif pour l'antigène p24 du VIH-1. D'autres tests ne sont pas nécessaires.
- Échantillons avec des valeurs d'absorbance égales ou supérieures à la valeur seuil sont considérés comme réactifs ou positifs pour le VIH-1 et/ou VIH-2 anticorps ou l'antigène p24 du VIH-1. Les échantillons de thèses (à l'aide de l'échantillon original) doivent être ré-tester en double avant confirmation définitive du résultat.
- Spécimens initialement positifs qui ne réagissent pas dans une des épreuves répétées en double, sont considérés comme négatifs pour les anticorps anti-VIH-1 et VIH-2 et négatif pour l'antigène p24 du VIH-1. Si l'une des deux valeurs de ré-tester est égale ou supérieure à la valeur seuil, l'échantillon est considéré comme répétable. Les spécimens qui ont été trouvés positifs répétés sont interprétés comme positif pour la présence d'anticorps anti-VIH-1 et/ou VIH-2 ou l'antigène p24 du VIH-1. Dans la plupart des paramètres, il convient d'étudier les échantillons positifs répétés par des tests supplémentaires et plus spécifiques.

Limites:

- Strict respect du protocole recommandé et équipement est nécessaire pour les résultats des tests fiables programmés. Échantillon précis et réactif de pipetage et le moment de laver et d'incubation doivent être respectées.
- Comme avec tous les tests de diagnostic in vitro, un diagnostic clinique définitif doit ne pas être réalisé uniquement sur les résultats d'un test unique base. Une évaluation complète par un médecin est nécessaire pour établir un diagnostic définitif.

3.7.2.4 MP Diagnostics-HIV- Blot. Wertern Blot

Principe de la méthode

Le test repose sur le principe de l'ELISA indirect sur bandelette de nitrocellulose contenant toutes les protéines constitutives du virus et un contrôle interne anti- IgG. La bande de contrôle interne permet de valider l'addition de l'échantillon, des réactifs et le bon déroulement du protocole opératoire.

Les protéines du virus HIV sont séparées en fonction de leurs poids moléculaires par électrophorèse sur gel de polyacrylamide en milieu dissociant et réducteur, puis électrotransférées sur membrane de nitrocellulose.

Mise en œuvre du test

- Réhydratation des bandelettes
 - Incubation des échantillons à confirmer ou des sérums de contrôle.
- Si des anticorps anti- HIV sont présents, ils se lient aux protéines virales reconnues, présentes sur la bandelette.
- Après lavage, on procède à l'incubation des anticorps anti IgG humain marqués à La phosphatase alcaline. Le conjugué se lie aux anticorps anti-HIV retenus sur le support solide.
 - Après lavage et élimination du conjugué en excès, la solution de révélation permet de mettre en évidence l'activité enzymatique des complexes liés à la nitrocellulose.
 - L'apparition de bandes colorées spécifiques permet de mettre en évidence la présence d'anticorps anti- HIV dans le sérum

3.7.3. Précautions à prendre lors de la sérologie HIV:

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

- Ramener les réactifs à tester à la température ambiante et remettre les réactifs entre 2 –8°C après utilisation.
- Veuillez à ce que les réactifs et les échantillons soient homogènes avant utilisation.
- Pour éviter toute contamination, ne pas toucher le haut des barrettes, le bord des cupules, le liquide dans les cupules ou la sphère de conjugué avec les doigts ou avec les embouts de pipette.
- Toutes les manipulations avec pipette doivent être effectuées avec un soin et une précision particulière.
- Eliminer toutes les bulles d'air dans les cupules en tapotant doucement.
- Une maintenance de routine du système aspiration /lavage est fortement recommandée afin d'éviter la contamination des échantillons entre eux.
- Manipuler tout le matériel utilisé comme s'il s'agissait de déchets biologiques dangereux.
- Eviter la contamination microbienne des réactifs.
- Eviter tout contact du tampon substrat, du chromogène et de la solution d'arrêt avec la peau et les muqueuses (risque de toxicité d'irritation et de brûlures).

3.8. Traitement et analyse des données:

Les données recueillies ont été saisies et analysées à l'aide des logiciels Excel 2013, épi info version 6.0. Le test Kappa a été utilisé pour comparer les proportions entre les tests. Le seuil de significativité a été fixé à 5%.

3.9. Aspects éthiques :

L'étude s'est déroulée en respectant les règles d'éthique liées à la recherche sur les sujets humains en vigueur. Il ne s'agit pas d'une étude expérimentale sur l'homme. Il s'agit d'une étude d'observation sur prélèvements. Il n'y a pas eu de quantité supplémentaire de sang à prélever en dehors de la poche chez les donneurs. La collecte des échantillons biologiques, leur manipulation et leur traitement ont été faits selon les normes de sécurité biologique. La gestion et l'élimination des déchets biologiques ont été faites en accord avec les procédures de traitements des résidus biologiques et matières infectieuses du Mali. Un consentement a été signé par les donneurs de sang avant le don et l'étude n'a comporté aucun risque additionnel pour le donneur. Les noms et prénoms de donneurs n'ont pas été utilisés. Seulement les numéros d'identification des poches ont servi à identifier les prélèvements.

4-Résultats

4.1-Données sociodémographiques:

4.1.1-Sexe

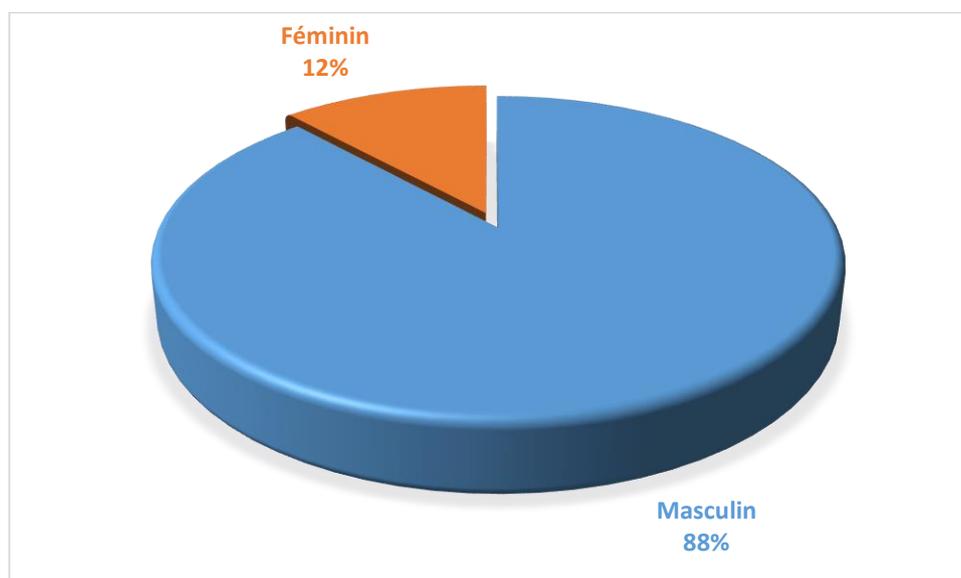


Figure 6: Répartition des donneurs en fonction du sexe

Le sexe masculin était majoritaire avec une fréquence de **88%**.

Le sexe ratio était **7,5**.

4.1.2. Age:

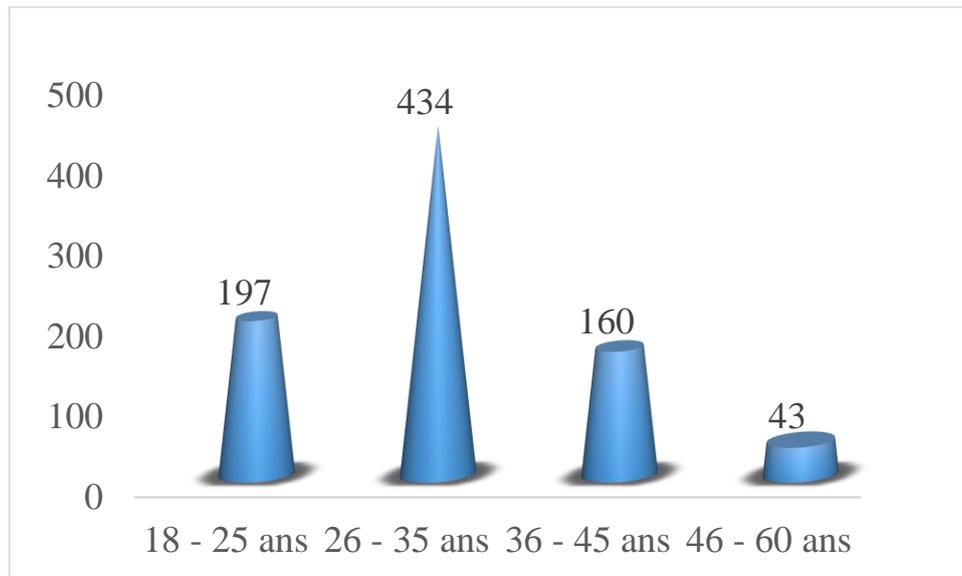


Figure 7: Répartition des donneurs en fonction de la tranche d'âge

La tranche d'âge **26-35 ans** était la plus représentée avec **52,03%**.

L'âge moyen était de **31,40 ± 7,25 ans** avec des extrêmes d'âge **18 et 58 ans**

4.1.3. Niveau d'instruction:

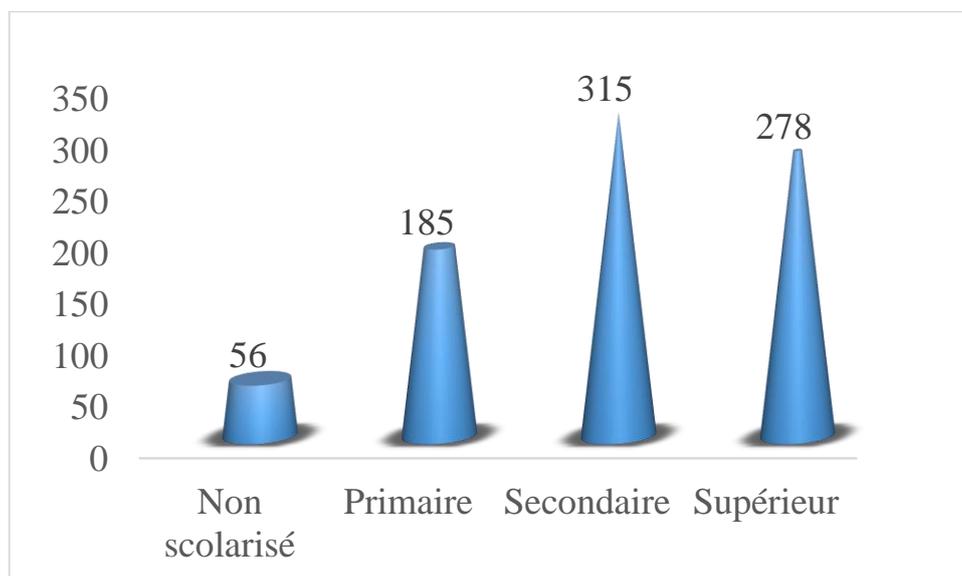
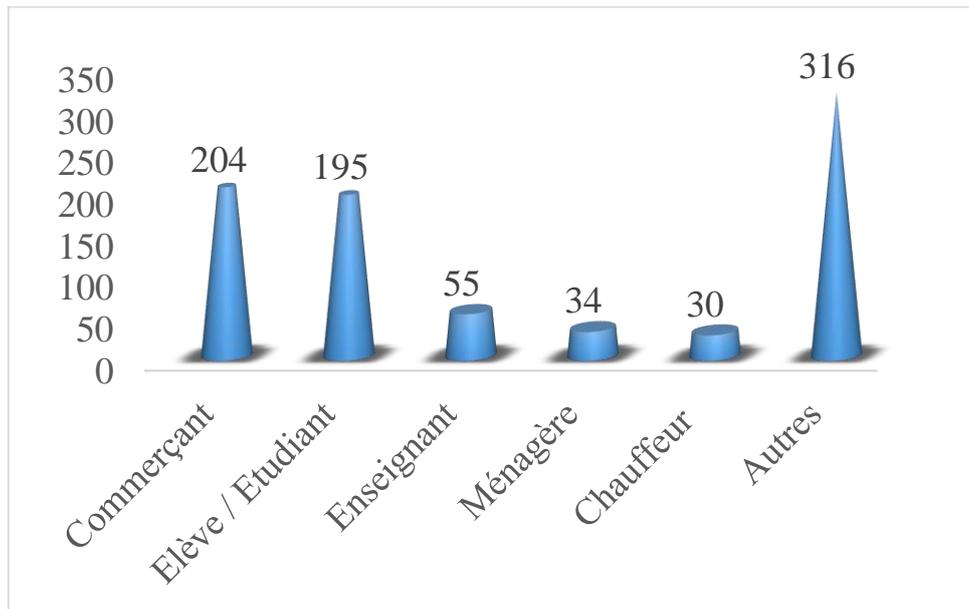


Figure 8: Répartition des donneurs en fonction du niveau d'instruction

Les donneurs ayant un niveau d'instruction secondaire et supérieur étaient majoritaire soit respectivement **37,77%** et **33,33%**.

4.1.4-Profession:



Autres : magistrat, cultivateur, économiste, militaire etc...

Figure 9: Répartition des donneurs selon la profession

Les commerçants et les Elèves/Etudiants étaient les plus représentés soit respectivement 24,46% et 23,38%.

4.2. Données des tests de dépistages:

4.2.1. Type de dons de sang:

Tableau III: Répartition des donneurs en fonction du type de dons

Types de don	Effectif	%
Familiaux	596	71,47
Volontaire	238	28,53
Total	834	100

Les donneurs familiaux étaient majoritaires au cours de notre étude avec **71,47%**.

4.2.2. Lieu de collecte:

Tableau IV: Répartition des donneurs selon le lieu de collecte

Lieu de collecte	Effectif	%
Cabine fixe	734	88
Collecte mobile	100	12
Total	834	100

Les donneurs recrutés en cabine fixe étaient majoritaire avec 88%

4.2.3. Résultats des tests:

4.2.3.1 Genscreen Ultra HIV Ag/Ac:

Tableau V: Résultat du Genscreen sur les 834 sérums

Genscreen	Nombre de sérum
Positif	31
Négatif	803
Indéterminé	00
Total	834

Le Genscreen a donné 31 positifs et 803 négatifs.

4.2.3.2. Murex HIV combinaison Ag/Ac

Tableau VI: Résultat du Murex sur les 834 Sérums

Murex	Nombre de sérum
Positif	23
Négatif	810
Indéterminé	01
Total	834

Le Murex a donné 23 positifs, 810 négatifs et 01 indétermin

4.2.3.3. Apdia HIV Ag/Ac

Tableau VII: Résultat d'Apdia sur les 834 sérums

Apdia	Nombre de sérum
Positif	25
Négatif	808
Indéterminé	01
Total	834

L'Apdia a donné 25 positifs, 808 négatifs et 01 indéterminé

4.2.3.4. Séroprévalence du VIH au trois (03) tests

Tableau VIII: Séroprévalence du VIH

Tests	Effectif n=834	%
Genscreen	31	3,71
Murex	23	2,07
Apdia	25	2,9

Genscreen 3,71%, Murex 2,07%, Apdia 2,9%

4.2.3.5. Western Blot

Tableau IX: Résultat du western Blot sur 36 échantillons positifs

Western Blot	Nombre de sérum
Positif	18
Négatif	4
Indéterminé	14
Total	36

Le western blot VIH-1 a donné 18 positifs, 4 négatifs et 14 indéterminés.

Les 14 indéterminés ont été exclus de notre étude.

4.2.4 Concordance entre les tests

4.2.4.1. Murex/Genscreen:

Tableau X: Résultat du Murex par rapport Genscreen

Tests	Genscreen			
		Positif	Négatif	Total
Murex	Positif	20	03	23
	Négatif	10	800	810
Total		30	803	833

Il y a eu 18 positifs et 802 négatifs commun, 10 négatifs au Murex mais positifs au Genscreen, 03 positifs au Murex et négatifs au Genscreen

Il y a une forte concordance entre les 02 tests avec kappa:0,71

4.2.4.2. Apdia/Genscreen:

Tableau XII: Résultat du Genscreen par rapport à l'Apdia

Tests	Genscreen		Total	
	Positif	Négatif		
Apdia	Positif	22	03	25
	Négatif	08	800	808
Total		30	803	833

Il y a eu 18 positifs et 804 négatifs commun, 08 négatifs à l'Apdia et positifs au Genscreen, 03 positifs à l'Apdia et négatifs au Genscreen.

Forte concordance entre les tests avec kappa= 0,71

4.2.4.3. Apdia/Murex:

Tableau XIII: Résultat de l'Apdia par rapport au Murex

Tests	Murex		Total	
	Positif	Négatif		
Apdia	Positif	21	03	25
	Négatif	02	806	808
Total		23	810	833

Il y a eu 21 positifs et 806 négatifs commun ,02 négatifs à l'Apdia et positifs au Murex, 03 positifs à l'Apdia et négatifs au Murex.

4.2.4.4-Concordance Kappa:

Tableau XIII: Concordance entre les tests

Tests	Kappa	Interprétations
Murex/Genscreen	0,66	Accord fort
Apdia/Genscreen	0,66	Accord fort
Apdia/Murex	0,83	Accord parfait

Accord fort entre Murex/Genscreen et Apdia/Genscreen

Accord parfait entre Apdia/Murex

5. Commentaires-Discussion

5.1. Aspects méthodologiques:

Il s'agissait d'une étude transversale prospective qui s'est déroulée du 1^{er} décembre 2016 au 31 août 2017 sur site fixe au Centre National de Transfusion Sanguine et sur collectes mobiles à Bamako.

Au total, huit cent trente-quatre (834) donneurs de sang ne présentant aucune contre-indication absolue ou relative au don, ont été inclus dans notre l'étude. Chaque échantillon a été testé au trois (03) tests et les positifs de la chaine ELISA ont été testés par le Western Blot.

Tous les donneurs enrôlés ont donné leur consentement et les bonnes pratiques du laboratoire ont été scrupuleusement observées.

5.2. Résultats:

5.2.1. Sexe

Les donneurs étaient majoritairement constitués d'hommes soit **88%** contre **12%** pour les femmes avec un sexe ratio de **7,5**. Cette prédominance masculine a été aussi retrouvée dans les études de **Traoré.H [23]** et **Ouédraogo.H [24]** au Mali qui étaient respectivement **4.96** et **5.70**. Cela pourrait s'expliquer d'une part par la présence de certaines contre-indications spécifiques à la femme qui sont entre autre : la grossesse, l'accouchement, l'allaitement de moins de six (06) mois, la période menstruelle et d'autre part par la peur que de nombreuses femmes manifestent face au don de sang.

5.2.2. Age

Nous avons trouvé une fréquence élevée dans la tranche d'âge **26-35 ans** soit **52,03%** avec une moyenne d'âge **31,40± 7,25 ans** et des extrêmes **18** et **58 ans**. Cette moyenne est supérieure à celle trouvée par **Traoré.H [23]** qui était de **30,03±9.04** avec comme seuil de signification **p= 2,6 10.⁻⁴**

Cette différence pourrait s'expliquer par le fait que la majorité de ses donneurs ont été recruté dans les établissements secondaires et supérieurs.

5.2.3. Niveau d'instruction:

Dans notre étude nous avons trouvé une fréquence élevée des donneurs ayant un niveau d'instruction supérieur et secondaire de **33,33** et **37,77%**.

Ce résultat est comparable à celui observé par **Traoré. H** au Mali [23] pour le niveau d'instruction supérieur qui était **35,9%** avec comme **p= 0.3**. Par contre il est supérieur à celui de son niveau d'instruction secondaire qui était de **30,3%** avec comme seuil de signification **p= 1,1.10⁻⁴**. Cela pourrait s'expliquer par la multiplicité des campagnes de promotion du don de sang en général, axée sur les établissements d'enseignement secondaire et supérieur.

5.2.4. Professions:

Dans notre étude les commerçants et les Elèves/Etudiants étaient les plus représentés soit **24,46%** et **23,38%**.

5.2.5. Type de dons:

Les donneurs familiaux étaient majoritaires dans notre étude avec **71,47%**. Ce résultat est supérieur à celui observé par **Traoré.H** au Mali qui était de **38,5%** [23] pour le même type de dons avec comme seuil de signification **p= 10⁻⁶**. Cette différence pourrait s'expliquer par le fait qu'il a recruté plus de donneurs en collecte mobile.

5.2.6. Lieu de collecte:

Les donneurs recrutés en cabine fixe étaient les plus représentés avec **88%**. Cela pourrait être expliqué par le fait que les donneurs parentéraux sont enregistrés en cabine fixe qui sont la majorité donneurs.

5.2.7. Résultats des tests:

5.2.7.1. Genscreen:

Dans notre étude le Genscreen a donné 31 positifs ,803 négatifs. Parmi ces 31 positifs ,18 ont été confirmés par le western blot, 02 n'ont pas été confirmés et 11 ont été indéterminés. Cela pourrait être expliqué d'une part par le fait que la fenêtre de séroconversion du Genscreen est plus courte que celle du Western blot et d'autre part par la sensibilité élevé du Western blot par rapport au Genscreen.

5.2.7.2. Murex:

Dans notre étude le Murex a donné 23 positifs, 810 négatifs et 01 indéterminé. Parmi ces positifs 18 ont été confirmés par le western blot, 01 n'a pas été confirmé et 05 ont été indéterminés. Cela peut être expliqué par le fait que la fenêtre sérologique du Murex est plus courte que celle du western blot et la sensibilité du Western blot est plus élevée que celle du Murex.

5.2.7.3. Apdia:

Dans notre étude l'APDIA a donné 25 positifs, 808 négatifs et 01 indéterminé. Parmi les positifs le western blot a confirmé 18, il a donné négatif 03 et indéterminé 04. Cela peut être expliqué par la différence de fenêtre sérologique et de sensibilité qui existe entre les 02 tests.

5.2.8. Séroprévalence du VIH chez les donneurs de sang:

Dans notre étude la séroprévalence du VIH chez les donneurs de sang était de **3,71% au Genscreen, 2,07% au Murex et 2,9% à l'Apdia**. Ce taux est comparable à celui de **Traoré. H** au Mali qui était de **2% [23]** avec comme **p= 0,7**. Par contre il est largement inférieur à celui observé par **Ouédraogo. H** au Mali qui était de **16,34% [24]** avec comme seuil de signification **p= 10⁻⁶**.

Cette baisse pourrait s'expliquer par l'impact des campagnes de sensibilisation de la population sur la prévention du VIH.

5.2.9-Concordances des tests

5.2.9.1. Murex /Genscreen

Nous avons trouvé une concordance forte entre ses 02 tests avec kappa= 0,71

5.2.9.2. Apdia/Genscreen

Nous avons trouvé une concordance forte entre ses 02 tests avec kappa= 0,71

5.2.9.3. Apdia/Murex

Nous avons trouvé une concordance parfaite entre ses 02 tests avec kappa= 0,83

5.3. Limites de l'étude:

- La différence de fenêtre sérologique entre les tests ELISA et le Western Blot ce qui explique le nombre élevé des indéterminés ;
- La non réalisation du Western Blot sur l'ensemble des échantillons.

6. Conclusion et Recommandations

6.1. Conclusion:

Au terme de notre étude nous avons trouvé:

- La séroprévalence du VIH était 3,71% au Genscreen, 2,07% au Murex et 2,9% à l'Apdia ;
- Une concordance forte entre le Murex/Genscreen et l'Apdia/Genscreen ;
- Une concordance parfaite entre l'Apdia/Murex.

6.2. Recommandations

Au terme de ces résultats, nous formulons les recommandations suivantes :

- Aux décideurs politiques, au Haut Conseil de lutte contre le VIH et au Programme National de lutte contre le SIDA :
 - Accroître leurs engagements dans la lutte contre le VIH en mobilisant plus de fonds pour l'achat des tests de dépistage du VIH les plus sensibles pour la sécurité transfusionnelle.
 - Doter le CNTS de matériels de laboratoire pour la recherche sur le VIH.
- **Au C.N.T.S :**
 - Mener une étude d'évaluation des performances des tests.
 - Sensibiliser et encourager la population au don volontaire.
 - Former les techniciens sur la technique de réalisation du Western blot.
 - Faire une continuité la réalisation du Western Blot au CNTS pour les confirmations.
 - Mettre en place un algorithme de dépistage pour le VIH au CNTS.

Références:

1. **Onu sida. The Gap Report.** [En ligne]. 2016. P.127. Disponible à l'URL : http://www.unaids.org/fr/resources/campaigns/2016/2016_gap_report consulté le 01/01/2017 à 22h05.
2. **Rapport du Haut conseil national de lutte contre le Sida et Ministère de la santé 2012-2013**
3. **Mortimer P - The fallibility of HIV western blot.** Lancet 1993 ; 342:87-90
4. **Programme Mondial de Lutte Contre le Sida.** Recommandations concernant le choix et l'utilisation des tests de mise en évidence des anticorps anti-VIH. REH 1992; 67 :145-149.
5. **Brattegaard K, Kouadio J, Adom ML et Coll-** Rapid and simple screening and supplemental testing for HIV-1 and HIV-2 infections in West Africa. AIDS 1993; 7:883-885.
6. [http //www.pasteur.fr /actu/presse/dossier/sida/decouverte.htm](http://www.pasteur.fr/actu/presse/dossier/sida/decouverte.htm) consulté le 01/01/2017 23h50.
7. **AUBRY P. Infection par le VIH/Sida et tropiques Actualités 2015** Mise à jour 28/12/2015 :15p www.medecinetropicale.free.fr consulté le 10/01/2017 à 15h07'
8. **GENTILINI M.** Médecine tropicale, 5e édition Paris : Flammarion, 1993 : 950p.
9. **DR Valérie GARRAIT, PR Jean-Michel MOLINA.** Infection par le VIH. L A R E V U E D U P R A T I C I E N 2 0 0 0 , 5 0. Service des maladies infectieuses et tropicales, hôpital Saint-Louis, 75475 Paris Cedex 10.P.1003- www.medecinetropicale.free.fr consulté le 10/07/2017 à 21h07
10. Structure du VIH selon Y. Gille in www.google.fr / rubrique santé/SIDA. Consulté le 10/07/2017 à 22h
10. **DOLIVO, M. SUCHET, J Henry. ORFILA, J.** Maladies transmissibles par

Voie sexuelle (transmission du VIH/Sida). Paris: Masson, 2004.

11. PILLY, E. HORN, Bruno. MAY, Thierry. Maladies infectieuses et tropicales. Paris: Vivactie, 2006.

12. E.Pilly

Infection à VIH et SIDA.

2016: 616-617

13. NÉBIÉKY, OLINGER CM, KAFANDO E, DAHOUROU H, DIALLO S et al

Faible niveau de connaissances des donneurs de sang au Burkina Faso ; une entrave potentielle à la sécurité transfusionnelle. *Transf Clin et Biol* (2007) ; 14 : 446–52

14. PILLY E.

Maladies infectieuses et tropicales, 21ème éd. Paris : Alinéa plus et CMIT ; 2012.

15. BERTHE, Karidjatou.

Séroprévalence de la coinfection VIH/VHB parmi les clients consultant au CDV de l'institut Pasteur de côte d'Ivoire. Thèse de médecine, Université de Bamako: 2010 ; 11P07

16. KONE, Kadidia.

Coinfection VIH/VHB au CESAC de Bamako et USAG de la commune V. Thèse de Médecine, Université de Bamako : 2010 ; 10M543.

17. POL S.

Epidémiologie et Histoire naturelle de l'infection chronique par le VHB. *La lettre de l'hépto-gastro-entérologue* : 2006. 9(4) : p173 – 7.

18. CHABROLLE D et AGUT H.

Diagnostic biologique de l'infection par VIH. In ROSENHEIM M. ET ITOUA- NGPOPRO.

Sida-infection VIH : aspect en zone tropicale. Paris : Ellipses, 1989; p36-46.

19. Haute Autorité De Santé.

Dépistage du marqueur du VIH en France. Guide Affection de longue durée

. Saint-Denis La Plaine : HAS ; 2008, p194

20. [htt://anne.decoster.free.fr/d1_viro/vretroVO.html](http://anne.decoster.free.fr/d1_viro/vretroVO.html) consulté le 15/01/2017 à 16h45'

21. BARRE S.

Virologie fondamentale de l'infection à VIH tiré de GIRARD P .M ET AL- sida Edition Doin Paris 1998.

22. [htt://documentation.Ledmed.org/IMG/html/doc-10797.html](http://documentation.Ledmed.org/IMG/html/doc-10797.html)

Consulté le 20/01/2017 à 20h50'

23. TRAORE. H. Etude comparative de la séroprévalence des marqueurs VIH, VHB et VHC des dons de sang en collecte fixe et mobile à Bamako. Thèse médecine Bamako. USTTB. 14-M-270N° de la thèse. P-83

24. Ouédraogo.H. Évaluation des performances de sept tests de dépistage du VIH utilisés au Centre National de Transfusion Sanguine de Bamako. Thèse Pharm Bamako FMPOS2004-05P18 ; 96

Annexes:

FICHE D'INFORMATION

Titre : Etude de concordance de trois (03) tests de dépistage du VIH au CNTS de Bamako

Site d'étude : Centre National de Transfusion Sanguine, Bamako

Madame, Monsieur,

Le Centre National de Transfusion Sanguine du Mali vous invite à participer à une étude de concordance de trois (03) tests de dépistage du VIH au CNTS de Bamako

Nous voulons effectuer cette étude sur les poches de sang que vous allez donner pour les besoins de cette étude.

Le but final est d'améliorer la sécurité transfusionnelle.

Si vous êtes d'accord (participation volontaire), nous souhaiterions procéder à l'étude. Cet examen ne nécessite pas une prise supplémentaire de sang ou une autre pique en dehors du prélèvement de la poche. Pour avoir la possibilité d'étudier dans l'avenir d'autres agents infectieux, nous avons besoin de votre aide. Pour cela, nous vous demandons de nous autoriser à conserver, à l'état congelé, un échantillon de votre sang pendant dix ans. Si, par la suite, une étude sur un autre agent est nécessaire, l'échantillon de votre sang permettra la réalisation rapide de cette étude.

Bien entendu, le recueil et la conservation de cet échantillon n'impliquent pas pour vous une prise de sang supplémentaire : nous conservons simplement un des échantillons prélevés pour les analyses biologiques effectuées sur votre don de sang.

Le prélèvement veineux de la poche de sang que vous donnez sera effectué comme d'habitude dans les mêmes conditions et par le même personnel qualifié. La participation à cette étude est totalement libre et volontaire. Vous ne courez aucun risque, vous ne bénéficierez d'aucune indemnité.

« Si je refuse ultérieurement que mon sang soit utilisé pour un but de recherche sur une étude de concordance de trois (03) tests de dépistage du VIH au CNTS de Bamako, je donne mon accord pour la destruction de l'échantillon ». Nous vous rassurons selon les principes d'éthique que cette destruction sera faite et par les méthodes recommandées.

Les informations vous concernant seront gardées confidentiellement. Seuls l'investigateur principal et les personnes autorisées auront accès à ces informations. Votre nom et toute affiliation n'apparaîtront dans aucun rapport ou publication.

Si vous avez bien compris l'étude et que vous êtes d'accord, vous pouvez maintenant signer ou apposer votre empreinte digitale à la place ci-dessous indiquée sur ce document.

CONSENTEMENT LIBRE ET ECLAIRE

Je soussigné (e).....

Reconnais avoir reçu toutes les informations utiles à ma décision de participer à l'étude sur l'étude de concordance de trois (03) tests de dépistage du VIH au CNTS de Bamako, tant par la présente notice d'information qui m'a été remise que les explications fournies par le Dr.....

Je connais les raisons et les objectifs de cette recherche, et je sais que je peux à tout moment cesser ma participation pour quelque raison que ce soit, sans encourir aucun risque.

Je sais que le médecin est astreint à une confidentialité.

Etude de concordance de trois (03) tests de dépistage du VIH au CNTS de Bamako

Avez-vous des questions par rapport à cette étude?

Veillez nous poser des questions à tout moment par rapport à cette étude. Si vous désirez parler aux responsables de cette étude (Dr Hassana GUITTEYE), vous pouvez le contacter au numéro : (223) 76 72 19 41.

Si vous avez bien compris l'étude et que vous êtes d'accord, vous pouvez maintenant signer ou apposer votre empreinte digitale à la place ci-dessous indiquée sur ce document.

Bamako, le...../...../ 2016

Numéro d'identification: _____ **Age** _____ **(année)**

Signature du donneur

Signature de l'agent

FORMULAIRE DE COLLECTE DES DONNEES

Titre : Etude de concordance de trois (03) tests de dépistage du VIH au CNTS de Bamako.

Le but de notre étude est d'étudier la concordance de trois (03) tests de dépistage du VIH au CNTS de Bamako

Date du Don de sang:...../...../.....

1. Lieu de collecte:.....

2. Numéro d'identification du donneur :.....

3. Numéro du don :.....

4. Age _____ (année)

5. Sexe : 1 : Masculin / ___/ 2 : Féminin /___/

6. Type de donneur : 1 : Volontaire bénévole / ___/ 2 : Familial / ___/

7. Nombre de don : / ___/

8. Statut donneur : Donneur volontaire régulier /___/ Nouveau donneur /___/

9. Niveau d'instruction : 1 : Primaire /___/ 2 : Secondaire /___/ 3 : Supérieur /___/ 4 : Non scolarisé /___/

10. Professions :.....

10. Résultat des examens biologiques

➤ **Genscreen :** 1 : Positif/ ___/2 : Négatif / ___/ 3 : Indéterminé/ ___/4:DO /___/

➤ **Murex :** 1 : Positif / ___/ 2 : Négatif / ___/ 3 : Indéterminé/ ___/ 4: DO /___/

➤ **Apdia:**1 : Positif/ ___/2 : Négatif/ ___/3 : Indéterminé/ ___/4: DO /___/

➤ **Western blot HIV-1:** 1 positif/ ___/ 2 : Négatif / ___/ 3 : Indéterminé/ ___/

➤ **Western blot HIV-2:** 1 positif/ ___/ 2 : Négatif / ___/ 3 : Indéterminé/ ___/

Fiche signalétique

Nom: DEMBELE

Prénom: Bamadou

E-mail: *dembelefmpos@gmail.com*

Titre de la thèse: Etude de concordance de trois (03) tests de dépistage du VIH au CNTS de Bamako.

Année: 2016 -2017

Pays d'origine: Mali

Ville de soutenance: Bamako

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

Secteur d'intérêt: Transfusion sanguine, virologie, santé publique.

Résumé:

Vu le nombre important de coffrets de tests qui apparaissent sur le marché, il est important d'étudier la concordance entre les différents tests, c'est pourquoi nous avons évalué la concordance entre trois (03) tests de dépistage du VIH au CNTS de Bamako.

Ils s'agissait d'une étude prospective transversale qui s'est déroulée du 1er décembre 2016 au 31 août 2017. Tous les échantillons sanguins ont été analysés par la chaîne ELISA et les positifs reproductibles ont été testés par le western blot. Elle a porté sur un total de 834 sérums provenant des donneurs de sang du CNTS. Le sexe ratio était de **7,5** en faveur des hommes, la tranche d'âge **26-35** était la plus représentée avec **52.03%**. La séroprévalence du VIH était de 3,71 au Genscreen, 2,07 au Murex et 2,09 à l'Apdia.

MOTS CLES : Etudier– concordance – tests dépistage

Serment d'Hippocrate

En présence des Maîtres de cette faculté, de mes chers condisciples, devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure, au nom de l'Être Suprême d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine.

Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail, je ne participerai à aucun partage clandestin d'honoraires.

Admis à l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Je ne permettrai pas que des considérations de religion, de nation, de race, de parti ou de classe sociale viennent s'interposer entre mon devoir et mon patient.

Je garderai le respect absolu de la vie humaine dès la conception.

Même sous la menace, je n'admettrai pas de faire usage de mes connaissances médicales contre les lois de l'humanité.

Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

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

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

Je le jure !