

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Mouloud MAMMERI Tizi-Ouzou

Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques

Département de Biochimie-Microbiologie



Mémoire de Fin d'Études

En vue de l'obtention du diplôme de Master II en Biologie

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Thème

Approche bibliographique sur le virus HIV/ SIDA et son dépistage au laboratoire de microbiologie du CHU de Tizi-Ouzou

Réalisé par : Mme BEDRICI Karima ép. BEDAD

Soutenu devant le jury composé de :

Président :

Dr MOUALEK IDIR

MCB

Promoteur :

Pr HOUALI Karim

Pr

Co-Promoteur :

Dr CHERIFI Yasmine

MAA

Examineur :

Dr TITOUCHE Yacine

MCB

VIH / SIDA

Promotion 2019-2020

Dédicaces

Je dédie ce mémoire

A ma très chère mère

*A la mémoire de mon père, mes grands parents et
mon cher beau père*

A mon frère et ma sœur

A mes enfants et mon très cher époux

A toute ma famille, mes Amis et collègues

A toutes les personnes vivants avec le VIH.

Liste des figures

Figure 1 : 1 Organisation structurale du VIH	4
Figure 2 : Classification du VIH en groupes et sous-types.....	5
Figure 3 : Organisation du génome proviral du VIH-1	7
Figure 4 : Cycle viral du VIH	9
Figure 5 : Évolution naturelle de l'infection VIH.....	14
Figure 6 : Chronologie de positivité des tests de dépistage en fonction de l'évolution des marqueurs virologiques au cours de la primo-infection par le VIH-1	15
Figure7 : Schéma d'un dépistage simple.....	18
Figure 8 : les différents antirétroviraux du VIH.....	21
Figure 9 : Incidence des nouvelles infections à VIH entre 1980 et 2015 par régions mondiales	25
Figure 10 : Nouvelles infections avec le VIH/an en Algérie	26
Figure 11 : Évolution du taux de personnes dépistées connaissant leur statut VIH 2010-2018	27
Figure 12 : Évolution du nombre de décès par VIH chez les deux genres en Algérie de 2000	27
Figure 13 : Les différents composants du Kit de diagnostic HIV-1/HIV-2 (ELISA)	30
Figure 14 : Appareil ARCHITECT.....	32
Figure 15 : kit du test rapide HIV.....	32
Figure 16 COBAS AmpliPrep Et amplificateur COBAS TaqMan.....	34
Figure17 : Remplissage de la microplaque	39
Figure18 : Incubation de la microplaque.....	40
Figure19 : Lavage automatique de la microplaque	40
Figure 20 : Application du test rapide	43
Figure 21 : Représentation graphique du nombre de des dépistages volontaires du CHU des années 2014-2020	44
Figure 22 : Représentation graphique de la différence significative du nombre de dépistages volontaire et les dépistages systématiques, l'année 2020.....	45

Figure 23 : Représentation graphique du nombre des nouveaux cas positifs des dépistages volontaires du CHU de TO des années 2014-2020	46
Figure. 24 Représentation graphique des moyennes des taux de réponses immunitaires des dépistages volontaires des années 2014-2020.....	47
Figure. 25 Analyse en composante principales des charges virales et des patients	50
Figure 26 : tests rapides TROD positif à HIV	51

Liste des tableaux

Tableau1 :Récapitulatif du VHI-1 contre le VIH-2	4
Tableau 2 : Classification clinique de l'infection d'après le CDC 1993.....	14
Tableau 3 : Données mondiale sur le VIH (ONUSIDA, 2018)	24
Tableau 4 : comparaison entre le nombre de dépistages volontaire et les dépistages systématiques (annexe)	45
Tableau 5 : pourcentage de positivité des dépistages volontaires.....	46
Tableau. 6 Résultats de la mesure de la réponse immunitaire des dépistages volontaires du CHU des années 2014-2020	48
Tableau 7 : Résultats des dépistages systématiques du laboratoire de microbiologie du CHU de juillet 2020 à décembre 2020.....	48
Tableau 8 : Comparaison des résultats positifs obtenus avec les trois techniques	49
Tableau. 9 charges virales des patients positifs à VIH du CHU tout les trois mois 2019-2020	50
Tableau. 10 charges virales des patients positifs à VIH du CHU en intervalle d'une année (annexe)	
Tableau11 : Nombre des dépistages volontaires du CHU de TO des années 2014-2020 (annexe)	
Tableau 12 :Nombre des cas positifs à VIH des dépistages volontaires du CHU de TO des années 2014-2020 En annexe	
Tableau 13 : Le nombre de tests effectués pour le service des MI du CHU de TO pour l'année 2019 En annexe	
Tableau 14 : charges virales de quelques patients positifs à VIH du CHU En annexe	

Liste des abréviations

AmpErase : Uracil N-glycosylase

ARV: antirétroviraux

BSA: bovine serum albumin

CCR5: cystein-chemokine receptor type 5

CMH: complexe majeur d'histocompatibilité

CP : control positif

CT : seuil critique

CTL : lymphocytes T cytotoxique

CV : charge virale

CXCR4: CX chemokine receptor type 4

DO: densité optique

ELISA: enzyme-linked immunosorbent assay

env: enveloppe

gag: group antigen

gp 40: glycoprotéine 40

gp120: glycoprotéine 120

IFNgamma : interferon gamma

IL-2 : interleukine 2

INNTI : inhibiteurs non nucléotidiques de la transcriptase inverse

INTI : inhibiteurs nucléotidiques de la transcriptase inverse

IP : inhibiteurs de la protéase

LTR : long terminal repeat

NC : control négatif

ONUSIDA : organisation des nations unies syndrome de l'immunodéficience acquise

Pol : polymérase

QS : standard de quantification

rev: regulation of expression of viral proteins

RT : rétrotranscriptase

tat: trans-activator of transcription

TI: transcriptase inverse

Vpr : viral protein

VS: valeur seuil

who : world health organization.

λ : longueur d'onde

Sommaire

Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Résumé	
Introduction	1
Chapitre I Synthèse bibliographique	3
Partie I Généralité sur le virus VIH	
I.1Taxonomie	3
1.1.1 Les oncovirus	3
1.1.2 Les lentivirus	3
1.1.3 Les spumavirus	3
I.2 Structure du VIH.....	3
I.3 Variabilité génétique	4
I.3.1 Les variétés du VIH	4
I.3.2 Les génotypes du VIH	5
I.3.3 Organisation génomique et structurale du VIH-1	5
I.3.3.1 Organisation du génome du VIH	5
I.3.3.2 Structure génétique du VIH-1	5
I.3.3.2.1 les gènes de structure	6
I.3.3.2.1.1 Le gène <i>gag</i>	6
I.3.3.2.1.2 gène <i>pol</i> (polymérase)	6
I.3.3.2.1.2.1 La transcriptase inverse.....	6
I.3.3.2.1.2.2L'intégrase	6
I.3.3.2.1.2.3 La protéase	6
I.3.3.2.1.3 Gène <i>env</i> (enveloppe virale.....	6
I.3.3.2.2 les gènes codant pour les protéines régulatrices	6
I.3.3.2.3 Les gènes codant pour des protéines accessoires	7
I.4 Cycle de réplication du virus VIH	8
I.4.1Fixation	8
I.4.2 Pénétration	8

I.4.3 Rétrotranscription et intégration	8
I.4.4 Expression de l'ADN intégré.....	8
I.4.5 Assemblage, libération et maturation	9
I.5 Échappement du VIH au système immunitaire	10
I.5.1 Échappement du VIH à l'action de l'INF _{gamma}	10
I.5.2 Échappement du VIH à l'action des cellules dendritiques	10
I.5.3 Échappement du VIH à la réponse des T CD4 ⁺	11
I.5.4 Échappement du VIH à la réponse des CTL	11
I.5.5 Destruction du VIH des lymphocytes CD4	11
I.5.6 La latence virale et variabilité génétique du VIH	12
I.5.6.1 La latence virale	12
I.5.6.2 La variabilité génétique VIH	12
I.5.7 Effet de la protéine nef sur l'inféctuosité du VIH	12
I.5.8 L'inféctuosité de la protéine tat	12
I.5.9 Rôle de la protéine VPU dans l'échappement du VIH aux défenses immunitaires	13
I.5.10 Rôle de la protéine VPR dans l'échappement du VIH aux défenses immunitaires	13
I.5.11 Le double tropisme du VIH	13
Partie II Épidémiologie de l'infection par le VIH	13
II.1 Modes de transmission du VIH	13
II.1.1 La transmission sexuelle	13
II.1.2 La transmission verticale mère enfant	13
II.1.3 La transmission par voie sanguine	13
II.2 Evolution de l'infection par l'VIH	14
II.2.1 Primo-infection	15
II.2.1.1 Biologiquement	15
II.2.2 La phase asymptomatique	16
II.2.2.1 Biologiquement	16
II.2.2.2 Cliniquement	16
II.2.3 Phase symptomatique mineur	16
II.2.4 Phase symptomatique ou SIDA	16
II.3 Dépistage et diagnostic biologique du VIH	16
II.3.1 Stratégies de dépistage	17
II.3.2 Dépistage en population générale	17
II.3.3 Dépistage ciblé et régulier	17

II.3.4 Dépistage prénatal universel	17
II.3.5 Dépistage sérologique de première intention	17
II.3.5.1 Principe du dépistage sérologique	17
II.3.5.2 Test de dépistage sérologique	18
II.3.5.3 Test de confirmation	18
II.4 Détection et quantification de l'antigène p24	19
II.5.1 Quantification de l'ARN viral par PCR	20
II.10 Traitement	20
II.1 Les antirétroviraux	20
II.10.2 Résistance aux antirétroviraux	22
II.10.2.1 Mécanisme de résistance	22
II.10.3 Le suivi thérapeutique des patients	23
II.10.3.1 Surveillance clinique	23
II.10.3.2 Surveillance biologique	23
II.10.3.3 Surveillance immuno-virologique	23
II.11 Immunité naturelle	23
II.12 Épidémiologie de l'infection par le VIH	24
II.12.1 Épidémiologie dans le monde	24
II.12.1.1 Statistiques mondiales sur le VIH en 2019	24
II.12.2 Épidémiologie du VIH en Algérie	25
1.12.3 Épidémiologie au niveau de la wilaya de Tizi-Ozou	28

Chapitre II Matériels et Méthodes

I. Matériels	29
I.1 Lieu d'étude	29
I.2 Période d'étude	29
I.3 Population d'étude	29
I.4 Supports des données	29
I.5 Échantillons biologiques	29
I.6 Techniques utilisées	29
I.6.1 ELISA	29
I.6.1.1 Avantages du test ELISA	30
I.6.1.2 Limites du test ELISA	31

I.6.2 La PCR	31
I.6.2.1 Avantages de la PCR	31
I.6.2.2 Limite de la PCR.....	31
I.6.3 Spectrophotométrie ARCHITECT.....	32
I.6.4 Test rapide TROD	32
II. Méthodes	33
II.1 La PCR et RT-PCR quantitative temps-réel	33
II.1.1 La RT-PCR (Reverse Transcriptase PCR)	33
II.1.2 La PCR en temps réel	33
II.1.2.1 le principe	33
II.1.2.2 Protocole opératoire.....	34
II.1.2.2.1 Préparation des échantillons	35
II.1.2.2.2 Transcription inverse et amplification par PCR	35
II.1.2.2.3 Les produits de la PCR	37
II.1.2.2.4 Quantification de l'ARN du VIH	37
II.2 Dépistage du SIDA par le test ELISA	38
II.2.1 principe	38
II.2.2 Protocole opératoire	38
II.2.2.1 Procédure semi-automatique	39
II.2.2.1.1 Préparation de la solution de lavage	39
II.2.2.1.2 Remplissage de la microplaque	39
II.2.2.2 Incubation	39
II.2.2.3 Lavage	40
II.2.2.4 Ajout de l'enzyme conjuguée	41
II.2.2.5 Incubation	41
II.2.2.6 Lavage	41
II.2.2.7 Ajout du substrat	41
II.2.2.8 Incubation	41
II.2.2.9 Interprétation des résultats	41
II.2.2.9.1 Validation de la plaque	41
II.2.2.9.2 Calcul de la moyenne des absorbances	42

II.2.2.9.3 Calcul de la moyenne des CP	42
II.2.2.9.4 Calcul de la moyenne des CN	42
II.2.2.9.5 Calcul de la valeur seuil	42
II.2.7 Confirmation par Western blot	42
II.2.8 La spectrophotométrie ARCHITECT	43
II.2.9 Test rapide	43
III.1 Résultats	44
III.1.1 Résultats statistiques du dépistage de la population d'étude des années 2014-2020	44
III.1.1.1 Le nombre de dépistages volontaire du VIH du CHU	44
III.1.1.2 Le nombre des dépistages systématiques du VIH du CHU de l'année 2020	44
III.1.1.3 Comparaison entre le nombre des dépistages volontaires et les dépistages systématiques pour l'année 2020	44
III.1.2 Résultats obtenus avec la spectrophotométrie ARCHITECT	45
III.1.2.1 Le nombre des cas positifs à HIV chez les dépistages volontaires	45
III.1.3 Résultats obtenus par ELISA	47
III.1.4 Résultats obtenus avec la PCR en temps réel.....	48
III.1.5 Résultats obtenus avec le test rapide TROD	51
III.2 Discussion	52

Résumé

Le VIH est un virus scientifiquement nommé Virus de l'Immunodéficience Humaine et responsable du Syndrome de l'Immunodéficience Acquise que tout le monde connaît sous le nom de SIDA. Cet agent pathogène est responsable d'une symptomatologie non spécifique avec notamment amaigrissement, fièvre, pneumonie, et sarcome de Kaposi entraînant des tumeurs cutanées violacées. Elle est décrite en Amérique majoritairement au sein de la communauté homosexuelle dans les années 1970.

Deux types ont été identifiés à ce jour. En 1983 L. Montagnier, J.C. Chermann, et Barré Sinoussi, ont isolé le VIH-1. Puis en 1985, BARIN et collaborateurs ont montré qu'un autre rétrovirus humain apparenté au VIH-1 circulait en Afrique de l'Ouest. Il s'agissait du VIH-2 monde. Les modes de transmissions de ces 2 types de VIH sont semblables, cependant le VIH 2 est cinq fois moins transmissible que le VIH-1 et ce lorsque le transmetteur est asymptomatique.

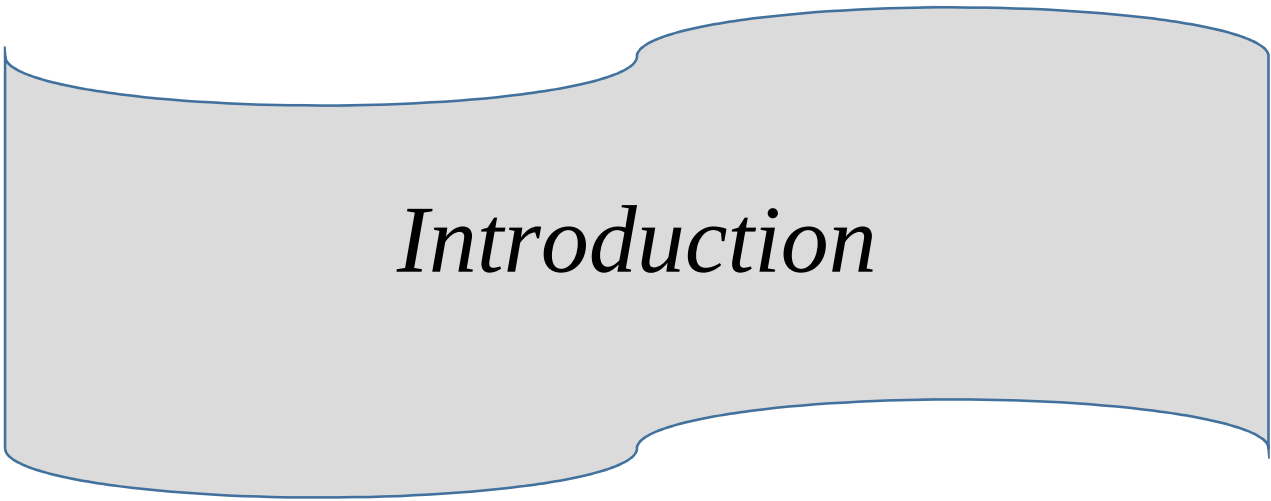
L'infection par le VIH est un problème de santé publique d'envergure mondiale. En effet depuis la description des premiers cas en 1983, l'infection par le VIH est devenue une véritable pandémie.

Depuis l'introduction du premier cas diagnostiqué de sida en Algérie en 1985, l'épidémie a grandement évolué au cours du temps. On peut dire après plus d'un quart de siècle de surveillance que l'Algérie, à l'image des pays de la rive sud de la Méditerranée, demeure un pays de faible prévalence mais que l'épidémie du VIH/SIDA se concentre actuellement dans certaines populations clés.

Le dépistage du VIH/SIDA est réalisé avec des techniques sérologiques différentes : la technique ELISA de quatrième génération combiné, à la fois recherche de l'antigène p24 et les anticorps anti HIV-1, la PCR en temps réel qui est une technique de référence par sa sensibilité et sa fiabilité, utilisée surtout dans le diagnostic du VIH chez les sujets moins de 18 mois et aussi d'une grande utilité dans le suivi de la charge virale des patients atteints du VIH sous traitement antirétroviraux. Le test rapide TROD est utilisé pour la confirmation du résultat. Selon les instructions de l'OMS un résultat positif du VIH n'est rendu qu'après confirmation avec trois tests différents.

Le control de la charge virale permet aux patients de bien suivre l'évolution de leur maladie, et aussi prouvé l'efficacité du traitement.

Dans notre travail, on prouve que les traitements ont donné de bons résultats, et que la plus part des patients présentent au bout de six mois à une année une charge non détectable du virus ce qui les rends non transmissible à la maladie, d'où le dépistage précoce aide beaucoup dans la prévention et la propagation de cette pandémie VIH/SIDA.



Introduction

Le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) a été identifié pour la première fois en 1983 par l'équipe française des Pr Montagnier et Barré-Sinoussi (Barré-Sinoussi, et *al.* 1983). Son implantation dans la population humaine a pour origine plusieurs passages de barrière d'espèces de virus SIV (Simian Immunodeficiency Virus) de primates d'Afrique de l'Ouest et d'Afrique centrale. La gravité de l'infection par le VIH est liée au lymphotropisme du virus qui conduit à une destruction du système immunitaire progressivement et au décès par infections opportunistes en l'absence de traitement antirétroviral.

Le VIH est un rétrovirus qui possède un génome très complexe. Son mécanisme de réplication, lui confère une forte variabilité génétique. Ainsi, plusieurs souches virales (ou quasi-espèces) circulent chez un même individu, ce qui constitue un obstacle majeur à la constitution d'un vaccin préventif et peut poser des problèmes de diagnostic et de prise en charge thérapeutique (ONUSIDA.2017).

D'une manière générale, le VIH est formé d'une molécule d'acide ribonucléique (ARN), contenue dans une matrice de protéines internes, le tout protégé par une enveloppe externe. Cette molécule d'ARN (voir figure 1) contient l'information génétique nécessaire à la réplication du virus, sous forme de 3 gènes principaux (Rebecca et *al.* 2007).

On distingue deux types antigéniques du virus VIH, le VIH-1 qui est le plus répandu dans le monde et VIH-2 présent en Afrique de l'ouest.

Grace aux techniques de biologie moléculaire et d'immunologie, le diagnostic des maladies virales est devenu facile et disponible dans tous les pays du monde. Les tests de dépistage : Les méthodes immunoenzymatiques de type ELISA sont actuellement les méthodes de référence pour mettre en évidence les anticorps sériques (qualitative), et la PCR (Polymerase Chain Reaction ou Reaction de Polymerase en Chaîne) (UHEL et *al.* 2019).

La transmission interhumaine du virus s'effectue par voie sexuelle, sanguine ou materno-foetale. Cette infection virale a touché environ 38 millions, dont 1.8 million d'enfants. Avec 1.7 million de personnes nouvellement infectées en 2019 et 25,4 millions de personnes avaient accès à la thérapie antirétrovirale et 690 000 personnes sont décédées de maladies liées au sida (ONUSIDA.2017).

Le VIH a constitué dès sa découverte un défi scientifique qui a mobilisé les chercheurs, les médecins et le tissu associatif autour d'un objectif : combattre ce virus mortel. L'étude virologique du VIH permet de comprendre son cycle de réplication et les pathologies associées afin d'élaborer des traitements antirétroviraux efficaces.

Notre travail est une étude prospective qui portera sur les techniques utilisées dans le diagnostic de l'infection VIH/SIDA au centre hospitalo-universitaire NEDDIR Mohamed de Tizi-Ouzou et de suivre l'évolution de la charge virale des patients sous antiretroviraux.

On a essayé de montrer l'efficacité de ces traitements ARV, afin de réaliser l'objectif de prévention ainsi réduire la propagation de cette maladie.

Sachant que la wilaya de Tizi-Ouzou a enregistré 25 cas de contamination par le VIH en 2019, 16 cas des hommes et 8 cas des femmes âgés de 20-40 ans et 01 nourrisson de 11 mois qui sont pris en charge dans le service des maladies infectieuses du CHU Neddir Mohamed de Tizi-Ouzou (DSP .TO.2020).

Chapitre I
Synthèses Bibliographiques

Partie I Généralité sur le virus VIH

I.1 Taxonomie

Le VIH (Virus de l'Immunodéficience Humaine) fait partie de la famille des rétrovirus, définit spécialement par leur réplication. Ces virus possèdent un ARN de haut poids moléculaire qui se transcrit en ADN « proviral » grâce à une transcriptase inverse contenu dans le virion (Girard *et al*, 2011).

La famille des rétrovirus comprend des particules virales, possédant toutes une transcriptase inverse et regroupées en 3 sous-familles (Girard *et al*, 2011).

1.1.1 Les oncovirus : les rétrovirus les plus répandus, ils sont dit transformants, associés à des leucémies tels que « human T-cell lymphotropic virus type 1 » (HTLV-1) et « human T-cell lymphotropic virus type 2 » (HTLV-2) (Girard *et al*, 2011).

1.1.2 Les lentivirus : ce sont des virus cytopathogènes responsables de maladies à évolution lente. On distingue deux types antigéniques de virus, VIH1 et VIH2.

Le VIH-1 répandu sur l'ensemble des continents, Le VIH2 a été isolé en 1985 chez des patients originaires de l'Afrique de l'Ouest (Girard *et al*, 2011).

1.1.3 Les spumavirus : virus non pathogène chez l'homme et l'animal (Girard *et al*. 2011).

I.2 Structure du VIH

Le VIH est un virus sphérique de 100 à 120 nanomètre de diamètre, il se compose principalement de trois entités structurales (**Fig1**). Il possède une enveloppe externe spéculée, contenant : les protéines de surface (gp 120 et gp 41), une nucléocapside dense constituée d'ARN viral, des protéines internes du virus et la transcriptase inverse (Bennai *et al*, 2015).

Le rôle de la GP120 est déterminant en ce qui concerne l'infection du VIH. En fait, cette protéine a trois rôles connus :

- rechercher les récepteurs appropriés à la pénétration du virus
- fixer la particule virale à la cellule cible
- assister et diriger l'injection du matériel viral dans la cellule.

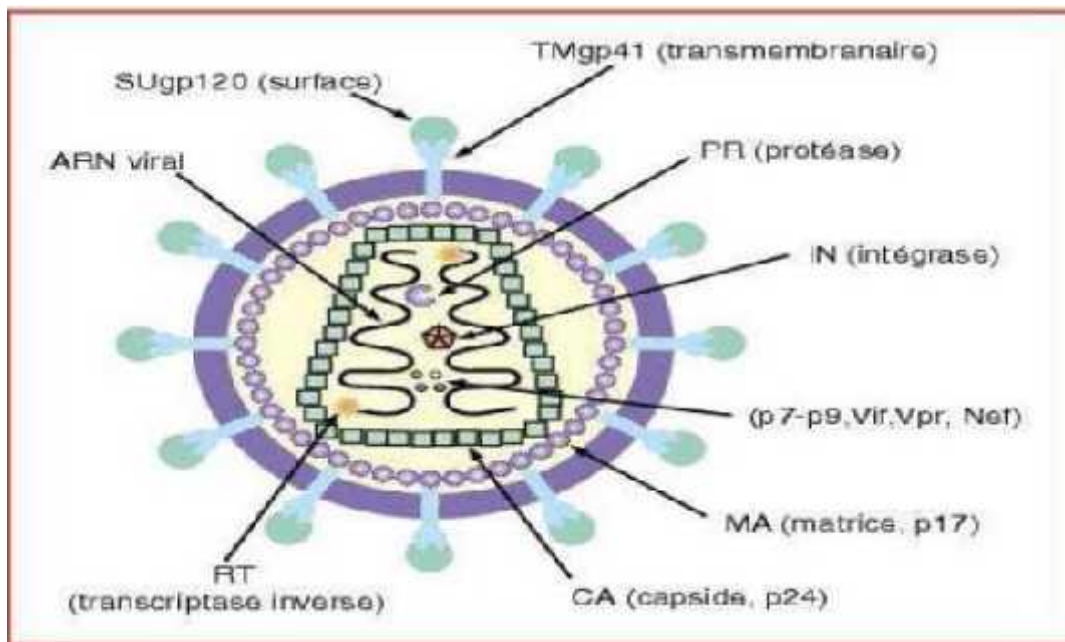


Figure. 1 Organisation structurale du VIH (Bennai et al, 2015).

I.3 Variabilité génétique

I.3.1 Les variétés du VIH

IL existe deux types de VIH : VIH1 et VIH2. Le plus répandu dans le monde et responsable du SIDA est le VIH-1, alors que le VIH-2 est moins pathogène et limité à certaines régions de l'Afrique de l'ouest (Girard et al, 2011).

Ainsi quand nous disons généralement le VIH, nous nous référons à VIH-1. La région d'origine du VIH-1 est le Cameroun et la république démocratique du Congo, (IRD, 2015).

Plus de 55% du matériel génétique est différent entre les deux virus. (**Tableau. 1**) (Cheriyedath et al, 2019).

Tableau.1 Récapitulatif du VIH-1 contre le VIH-2

VHI-1	VIH-2
)/ plus répandu dans le monde)/ plus pathogène)/ progresse rapidement vers le SIDA)/ transmissibilité supérieure)/ charges virales importantes, millions de copies /ml)/ ne ressemble pas au virus du macaque)/ protéines de l'env p (17, 24, 15(6,7))	)/ l'Afrique de l'ouest)/ moins pathogène)/ progresse moins vers le SIDA)/ transmissibilité inférieure)/ charges virales inférieures à 10.000 copies/ml)/ plus proche du virus du macaque)/ protéines de l'env p (16 et 26)

I.3.2 Les génotypes du VIH

Le VIH est très variable génétiquement, cela concerne essentiellement le gène *env*, par conséquent le VIH-1 est classé en trois groupes distincts :

Le groupe **M** : majoritaire, regroupant 9 sous-types VIH-1 (A-D, F-H, J et K) au niveau mondial, et plus de 43 recombinaux entre ces sous –types. (Rebecca et *al*, 2007). Sachant que leur pouvoir infectieux est plus élevé par rapport à celui des variants dont elles sont issues (**fig.2**) (Jose et *al*, 2011).

Le sous-type **B** : est prédominant aussi au nord d’Algérie (Supervi V.2014)

Le groupe **O** : (outlier) identifié au Gabon et au Cameroun (Veron et Pebret. 1996).

Le groupe **N** : identifié au Cameroun (Veron et Pebret. 1996).

Le VIH-2 est constitué de huit groupes d’A-H. (Huno Faria et *al*, 2012).

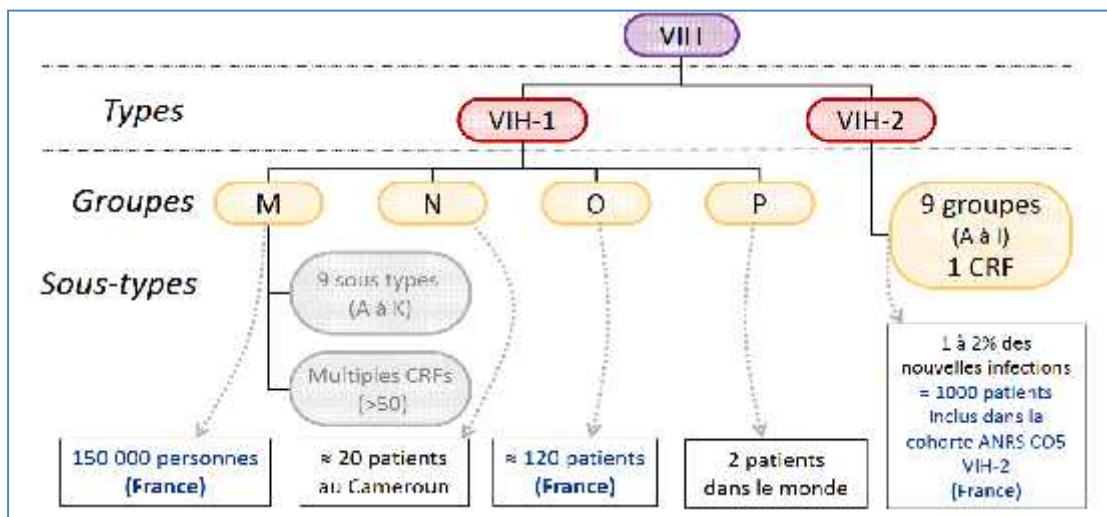


Figure. 2 Classification du VIH en groupes et sous-types. (Descamps et Bichat. 2015).

I.3.3 Organisation génomique et structurale du VIH-1

I.3.3.1 Organisation du génome du VIH

Le génome du VIH comporte 3 régions : *gag*, *pol* et *env*, qui codent respectivement pour les antigènes de la nucléocapside, les enzymes nécessaires à la réplication virale : la rétrotranscriptase (RT), intégrase et protéase, ainsi que les protéines de surface du virion, ces trois régions sont identiques pour les deux types du VIH (Bennai et *a*, 2015).

I.3.3.2 Structure génétique du VIH-1

Le génome du VIH-1 est petit, environ 9 kilobases, et se compose de deux molécules identiques d’ARN monocaténaire. Sa structure sous forme LTR-*gag*-*pol*-*env*-LTR est commune à tous les rétrovirus. Les gènes viraux sont au nombre de 9 et codent pour les trois

gènes de structure, pour les trois protéines régulatrices et pour les trois protéines accessoires : **(fig3)** (Lorgeoux et *al*, 2012).

I.3.3.2.1 les gènes de structure

I.3.3.2.1.1 Le gène *gag* Code pour les protéines de la capside et la matrice ainsi que les protéines associées à l'ARN viral : le précurseur protéique p55^{gag} se clive par la protéase en différentes protéines qui constitueront la structure interne du virus :

P17 et p16 : protéine constituant la matrice ;

P15 : clive en p6 et p7 essentiel pour la production de virion ;

P24 et p26 : constituant le core, utilisée également comme Ag dans le test ELISA pour dépister la présence du virus VIH lors de la primo-infection.

I.3.3.2.1.2 gène *pol* (polymerase) : il est exprimé sous forme d'un précurseur p160^{gag-pol} car le VIH est doté d'un codon stop à la fin du gene gag, mais une fois sur vingt se produit un changement de phase de lecture qui rend silencieux le codon de terminaison permettant ainsi l'obtention du précurseur p160^{gag-pol} (Larrrouy et *al*, 2010).

Pol code pour trois enzymes virales :

I.3.3.2.1.2.1 La transcriptase inverse (TI) p66 : qui transcrit l'ARN viral en ADN proviral ;

I.3.3.2.1.2.2 L'intégrase p32 : qui intègre l'ADN viral à l'ADN cellulaire

I.3.3.2.1.2.3 La protéase virale p12 : qui participe à l'assemblage du virus en clivant les précurseurs protéiques Gag p55 et Gag-pol 160.

I.3.3.2.1.3 Gène *env* (enveloppe virale) : dans le cas du VIH-1, il code pour un précurseur gp160 Env qui subit des modifications post-traductionnelles, dont la glycosylation, pour donner une glycoprotéine gp160. cette dernière va être clivée par des protéases cellulaires pour donner deux protéines matures (Charpentier et *al*, 2011).

I.3.3.2.1.3.1 gp120 : qui interagit avec les récepteurs cellulaires CD4 et les corécepteurs cysteine-chemokine receptor type 5 (CCR5) ou CX chemokine receptor type4 (CXCR4) pour initier le processus de fusion permettant au virus d'entrer dans la cellule (Stolp et Fackler. 2011).

I.3.3.2.1.3.2 gp41 : elle joue un rôle essentiel dans la fusion des membranes du virus et des cellules cibles (Brun-Vezinet et Wainberg. 2003).

I.3.3.2.2 les gènes codant pour les protéines régulatrices (*tat*, *rev* et *nef*) :

I.3.3.2.4.1 *tat* (transactivator of transcription) : la protéine codée par *tat* (p14) est une protéine régulatrice produite très tard après l'infection et elle est essentielle pour l'expression des gènes du VIH-1, sa réplication et son infectuosité (Leghmari et *al*. 2008) ;

I.3.3.2.4.2 rev (*regulation* of expression of viral proteins) : la protéine codée par ce gène (p19) est impliquée dans l'export nucléaire des ARN mono ou non épissés (Pollom et *al.* 2013).

1.3.3.2.4.3 nef (negative regulatory factor) : la protéine codée par le gène nef est (p27) est essentielle pour maintenir une forte charge virale. Elle est aussi responsable de la diminution de l'expression des récepteurs CD4 à la surface des cellules infectées, mais aussi la diminution de l'expression des molécules du complexe majeur de l'histocompatibilité (CMH) de classe I à la surface des cellules (Poropatich et Sullivan. 2011).

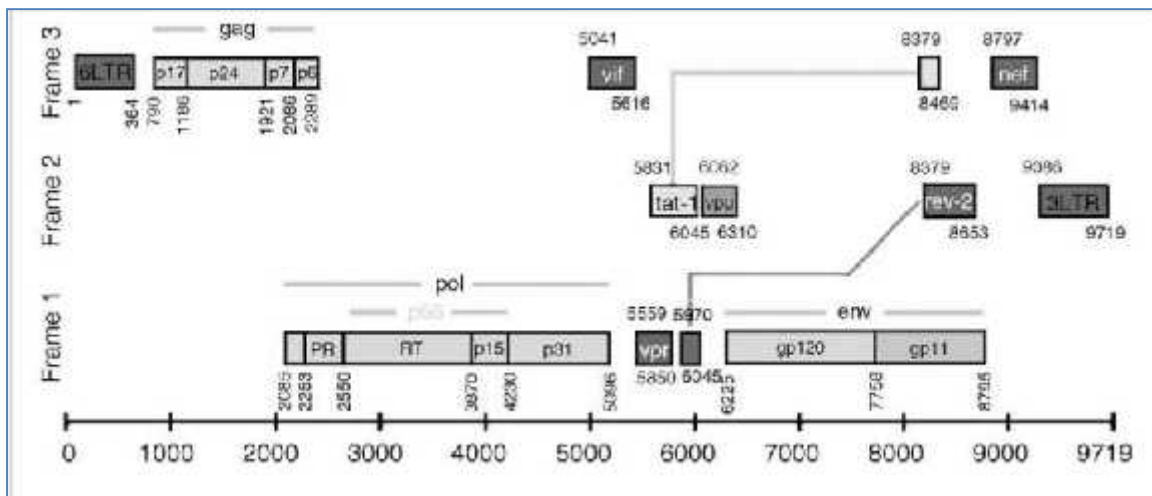


Figure. 3 Organisation du génome proviral du VIH-1(Sierra et *al*, 2005).

I.3.3.2.3 Les gènes codant pour des protéines accessoires (*vpu*, *vpr* et *vif*), non indispensables à la réplication virale mais nécessaires à la maturation et au relargage des particules virales infectieuses.

1.3.3.2.3.1 *vpu* (viral protéin u) : ce gène code pour une protéine membranaire p16 du VIH-1 qui n'est pas incorporée dans les particules virales. Cette protéine joue un rôle important dans la dégradation des CD4 et dans l'augmentation de la production des particules virales (Sato et al, 2012).

I.3.3.2.3.2 vpr (viral protein r) : ce gène n'est pas fondamental pour le VIH-1. Il est important dans l'infection des macrophages (Koyama et *al*, 2010).

I.3.3.2.3.3 *vif* (virion infectivity factor) : ce gène code pour une protéine p23 qui est essentielle pour l'infectuosité des particules virales (Schwartz, 2004).

Les deux extrémités du génome sont bordées par des séquences nucléotidiques répétées, les LTR pour Long Terminal Repeats. Ces séquences sont importantes pour la transcription

du génome proviral, ainsi que l'intégration du provirus dans le génome de la cellule hôte (Kobayashi-Ishihara et al, 2012).

I.4 Cycle de réplication du virus VIH

Le VIH est un microorganisme réduit à sa plus simple expression. Pour se multiplier il pénètre dans une cellule dont il utilise le matériel. Sa cible privilégiée est le lymphocyte T CD4⁺ ou TCD4, le cycle de réplication comprend plusieurs étapes (**fig.4**) (Gerbouin. 2017).

I.4.1 Fixation

Attachement du virus grâce à la protéine de surface gp120 sur le récepteur CD4. Des co-récepteurs cellulaires CCR5 (sur les macrophages) et CXCR4 (sur le lymphocyte) du VIH Sont des récepteurs pour les cytokines qui attirent les leucocytes au cours des réactions inflammatoires. Les cellules dendritiques présentatrices de l'Ag, fixent le virus à l'aide (DC-SIGN). Cette fixation rend le virus résistant. Ainsi la cellule migre jusqu'au ganglion où le virus trouvera les lymphocytes et les récepteurs nécessaires à sa pénétration. Il semble que le virus ne se réplique que dans le lymphocyte, les autres cellules qui peuvent le fixer le transportent vers les zones riches en lymphocytes (Clapham et Knight. 2002).

I.4.2 Pénétration

L'interaction de la gp120 avec le corécepteur va permettre de démasquer la gp41 qui va s'insérer dans la membrane cellulaire et fusionner avec elle. Cette fusion crée un passage permettant à la nucléocapside virale de se retrouver à l'intérieur du cytoplasme cellulaire (Viviana et al. 2006).

I.4.3 Rétrotranscription et intégration

Cette étape de réplication caractérise les rétrovirus. Une enzyme virale, la transcriptase inverse, traduit le brin d'ARN viral en ADN puis le duplique pour aboutir à un ADN proviral double brin, ressemblant à la double hélice de l'ADN humain. Cet ADN proviral migre avec l'intégrase virale vers le noyau. L'intégrase va couper l'ADN cellulaire et y introduit l'ADN proviral. La TI a la particularité de commettre beaucoup d'erreurs de traduction. C'est ce qui explique la très grande variabilité génétique du VIH. (Viviana et al. 2006).

Cet ADN proviral pourra rester intègre pendant longtemps, réalisant une infection chronique de la cellule, comme il pourra s'exprimer et donner le génome et les autres constituants des nouveaux virus, ce qui est plus fréquent (Stolp et Fackler. 2011).

I.4.4 Expression de l'ADN intégré

L'ARN polymérase cellulaire transcrit l'ADN proviral en ARN messager qui va jouer à la fois le rôle de messenger lu par les ribosomes de la cellule, et en ARN génomique virale exprimant l'information virale. Les six petits gènes viraux dits supplémentaires s'expriment en premier ; ils codent pour des protéines régulatrices de l'expression des gènes en coopération avec des facteurs cellulaires. Cela va orienter l'activité de l'ARN polymérase cellulaire vers la transcription des gènes codant les protéines de structure et les enzymes viraux (*gag*, *pol* et *env*) (Waheed et Freed. 2010).

Deux polyprotéines *gag* et *pol* sont synthétisées, elles migrent vers la membrane cellulaire. Sous l'action de la protéase virale, elles seront découpées en protéines capsidales et en enzymes virales lors de la phase de maturation. Une polyprotéine *env* est produite et sera glycosylée au niveau de l'appareil de golgi cellulaire pour donner la gp160, qui sera clivée par l'action de la protéase cellulaire en glycoprotéines gp120 et gp41 que l'on retrouvera sur la surface membranaire (Waheed et Freed. 2010).

I.4.5 Assemblage, libération et maturation

L'assemblage se fait sous la membrane cellulaire à un endroit remanié par la fixation sur gp120 et gp41. Les protéines de structure s'assemblent autour de deux molécules d'ARN, ensuite la membrane va bourgeonner autour de ces éléments jusqu'à les recouvrir et donner les nouveaux virions encore immatures. La protéase virale achève la maturation des précurseurs. Les nouveaux virus vont assurer la survie dans le réservoir en infectant d'autres cellules (Viviana et al, 2006).

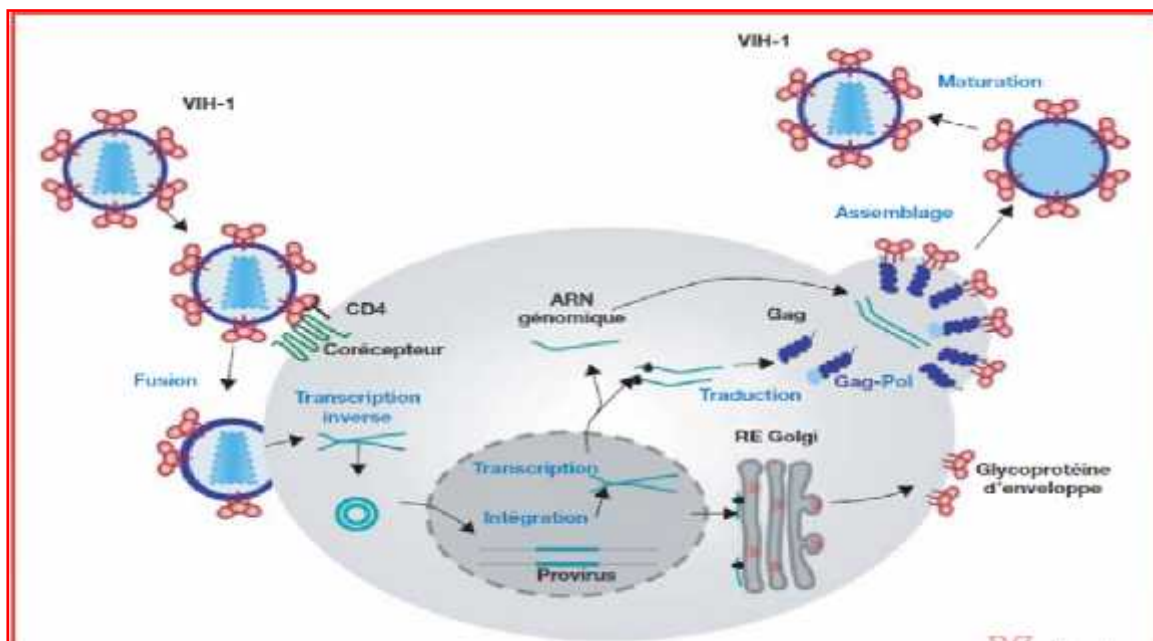


Figure. 4 Cycle viral du VIH. (Camara, 2009)

I.5 Échappement du VIH au système immunitaire

Le virus du VIH met en œuvre plusieurs stratégies pour échapper à la détection et la destruction par le système immunitaire :

I.5.1 Échappement du VIH à l'action de l'INF_{gamma}

Le VIH infecte tout d'abord des cellules de muqueuses, puis une forte réplication du virus, permettant sa dissémination rapide dans les organes lymphoïdes. Après quelques semaines on observe une réponse immunitaire humorale composée d'Ac dirigés contre toutes les protéines du VIH, et cellulaire médiée par les lymphocytes T CD4⁺ axillaires dites lymphocytes T helper (Th1), sont capables de produire l'interleukine-2 (l'IL-2) et l'INF_{gamma} amplifiant ainsi les lymphocytes T cytotoxiques (CTL) et jouent un rôle important à la phase de primo-infection. Le taux d'INF_{gamma} produit par ces lymphocytes Th1 constitue l'un des meilleurs indicateurs d'une réponse immune efficace, or le VIH diminue le taux d'INF_{gamma} ce qui lui permet d'échapper aux défenses immunitaires de l'hôte (Bouttiert et *al*, 2008).

I.5.2 Échappement du VIH à l'action des cellules dendritiques

Les cellules dendritiques folliculaires situées dans les follicules des ganglions lymphatiques possèdent la capacité de piéger les Ag sous forme de complexes immuns pendant longtemps favorisant l'activation et la sélection de lymphocytes B. Ces cellules dendritiques peuvent transmettre le VIH aux nombreux lymphocytes T CD4⁺ circulant au travers des organes lymphoïdes secondaires (Xiao-Qing et *al*, 2002).

Dans cette transmission sont impliquées les molécules CD40 et CD80 exprimées par les cellules dendritiques et leurs ligands respectifs, CD40L et CD80L. Ainsi, des Ac anti-CD40 ou anti-CD80 ont pour effet d'augmenter la transmission du virus aux lymphocytes CD4⁺. Les cellules dendritiques infectées peuvent aussi transmettre le VIH-1 à des monocytes et à des macrophages (Benaroch et Le Gall, 1999).

Le VIH parvient à désorganiser totalement la formation des centres germinatifs et leur contraction, ainsi le réseau tissé par les cellules dendritiques folliculaires. Chez un patient en phase aiguë on ne retrouve plus ces cellules et la capacité de piéger le virus dans les ganglions est perdue. Ce qui pourrait expliquer la diminution des défenses immunitaires dans cette phase (Benaroch et Le Gall, 1999).

I.5.3 Échappement du VIH à la réponse des T CD4+

Le VIH est capable d'entrer à l'intérieur du lymphocyte CD4 et d'y inclure son propre programme génétique, ainsi le lymphocyte ne remplit plus sa mission dans le système immunitaire, leur destruction progressive conduit à une immunodépression majeure.

La membrane du virion contient diverses protéines humaines. Elle contient une densité plus importante de molécule de classe II du CMH que la membrane plasmique des cellules productrices, ce qui les rend plus infectieux et pourraient aussi contribuer à augmenter leur avidité pour les cellules cibles. Les molécules de classe II du CMH présente sur les particules virales semblent à la fois fonctionnelles et dans la bonne orientation pour interagir avec d'éventuels récepteurs de l'Ag de lymphocytes T CD4+, puisqu'en présence de superantigène, ces molécules de classe II sont capables d'activer des lymphocytes T. en bourgeonnant à partir de cellules présentatrices d'Ag, environnées elles-mêmes de débris et de corps apoptotiques, le VIH emporte des molécule de classe II chargées potentiellement de peptides viraux. Ces virions portent alors un bon élément de restriction pour inactiver ou rendre tolérants les clones T CD4+ antiviraux (Clapham et Knight, 2002).

I.5.4 Échappement du VIH à la réponse des CTL

L'infection par le VIH provoque une forte réponse CTL. Le virus s'échappe à l'action des CTL par trois voies :

- Réduit le nombre de CTL actifs ;
- Interfère avec la synthèse et le trafic cellulaire ;
- Introduit des mutations dans les séquences virales (Gall et *al*, 2013).

I.5.5 Destruction du VIH des lymphocytes CD4

L'organisme est capable de lutter contre l'infection par le VIH en détruisant une partie des virus avec des Ac et aussi en fabriquant des quantités importantes de nouveaux lymphocytes CD4, pour remplacer ce que le VIH a détruit. Les CD4 sont les cibles du VIH une fois infecté il reproduit les virions du VIH qui vont s'attaquer à d'autre cellules CD4 non infectées ce qui abouti a la subsistance de moins de 50 cellules de CD4/mm³, alors que le taux sanguin normal est de 900/mm³ (Achour. 2005).

I.5.6 La latence virale et variabilité génétique du VIH

I.5.6.1 La latence virale

Pour que le virus du VIH ne soit pas reconnu et par conséquent détruit, une fois installé dans des macrophages, peut avoir une réplication modeste voire nulle attendant les circonstances favorables (Chingaichanet *al*, 2013).

I.5.6.2 La variabilité génétique VIH

Pour échapper au système immunitaire, la gp120 qui est présente à la surface du virus et qui interagit avec les récepteurs cellulaires CD4 et responsable de la fusion permettant au virus d'entrer dans la cellule. Il a été identifié sur cette protéine, 5 domaines constants dont l'un contient le domaine d'interaction avec le CD4 et 5 domaines variables. Ces régions variables sont le fait de nombreuses erreurs de la retratranscriptase et sont très immunogènes (Clapham et Knight, 2002).

Environ 10% d'erreurs par génome ont lieu à chaque réplication. Elles sont propagées à tous les virions produits par ce cycle qui induit la plus part du temps à l'apparition de nouvelles espèces du virus chez un même individu infecté. Ces mutations, dans le cas où elles ne sont pas létales pour le virus, elles lui permettent d'échapper aux tentatives, de neutralisation par les produits de la réponse immunitaire (Vangils et *al*, 2010).

I.5.7 Effet de la protéine *nef* sur l'inféctuosité du VIH

La protéine *nef* perturbe le métabolisme des cellules infectées, notamment la voie de l'endocytose, ainsi créer des conditions favorables à la propagation virale. Elle diminue l'expression des molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) et permet aux cellules infectées, d'échapper au système immunitaire. Diminution des CD4 à la surface des cellules infectées, induite par *nef*, augmente le pouvoir infectieux des virus en favorisant l'incorporation des glycoprotéines d'env dans la membrane du virus (Laugnette et *al*, 2009).

I.5.8 L'inféctuosité de la protéine *tat*

La protéine *tat* est un transactivateur fort indispensable à un taux élevé de la transcription du provirus HIV-1 dans la cellule infectée. Aussi impliquée dans l'apoptose des lymphocytes T sains (Mely, 2008).

I.5.9 Rôle de la protéine *vpu* dans l'échappement du VIH aux défenses immunitaires

La protéine *vpu* possède deux rôles importants, la dégradation des CD4 et l'augmentation de la production de particules virales (Winnie et *al*, 2004).

I.5.10 Rôle de la protéine *vpr* dans l'échappement du VIH aux défenses immunitaires

La protéine *vpr* bloque le cycle cellulaire en phase G2, ce qui favorise la réplication virale (Li et *al*, 2010).

I.5.11 Le double tropisme du VIH

En fonction du tropisme, on distingue deux de souches virales une à tropisme macrophagique, appelés virus à tropisme M ou virus R5 qui utilisent le corécepteur CCR5 et peu cytopathogène, l'autre à tropisme lymphocytaire, appelés virus à tropisme T ou virus X4, qui utilisent comme corécepteur le CXCR4, sont très cytopathogènes (Agrawal et *al*, 2009).

Partie II Épidémiologie de l'infection par le VIH

II.1 Modes de transmission du VIH

Trois principaux modes de transmission sont actuellement responsables de l'extension de l'épidémie du VIH-1(Timsit et Janier.2017).

II.1.1 La transmission sexuelle

Quatre vingt pour cent des infections dans le monde sont transmises suite à des rapports sexuels non protégés, hétérosexuels dans 70% des cas et homosexuels pour 5 à10% des cas (Harries et *al*, 2016).

Dans le sperme le VIH est présent non seulement sous forme de particule virales libres, mais aussi l'ADN proviral intégré dans les cellules infectées. La quantité du virus présente dans ces sécrétions génitales suit globalement la charge virale plasmatique du VIH-1(Timsit et Janier. 2017).

II.1.2 La transmission verticale mère enfant

La mère séropositive peut contaminer son enfant soit, pendant la grossesse par voie sanguine, dans 1/3 des cas, ou au moment de l'accouchement par voie sanguine et sécrétions vaginales, dans 2/3 des cas, ou pendant l'allaitement par le lait maternel (Frange et Blanche. 2014).

Le risque de transmission verticale et variable d'une femme a l'autre, selon son stade clinique de la maladie, taux de lymphocytes CD4 et la charge virale dans le plasma (Harries et *al*, 2016).

II.1.3 La transmission par voie sanguine

Ce mode de transmission concerne principalement les : les hémophiles et les autres malades ayant reçu une transfusion de sang ou dérivés de sang. Certaines pratiques sont à haut

risque de contamination à savoir le partage de seringues ou des aiguilles d'injection et le partage de la préparation de drogue (W.H.O.2015). Sans oublier la Contamination professionnelle du personnel de santé.

L'infection des hémophiles par HIV et de transfusés à rendu le dépistage, systématique sur tout don de sang (ONUSIDA.2018).

II.2 Évolution de l'infection par le VIH

L'infection évolue en trois phases, (stade A, stade B et stade C) à savoir l'incubation du virus VIH est d'environ 3 semaines (**tableau. 2**).

Tableau 2. Classification clinique de l'infection d'après le CDC 1993 (Grosjean *et al*, 2016).

Lymphocytes CD4+	Stade A Asymptomatique Primo-infection	Stade B Symptomatique Non SIDA	Stade C Symptomatique SIDA
$\geq 500/\text{mm}^3$	A1	B1	C1
200 à 499/ mm^3	A2	B2	C2
$< 200/\text{mm}^3$	A3	B3	C3

En l'absence de traitement, le cours naturel de l'infection par le VIH peut être schématisé en quatre phases (évolution naturelle) : (**fig. 5**).

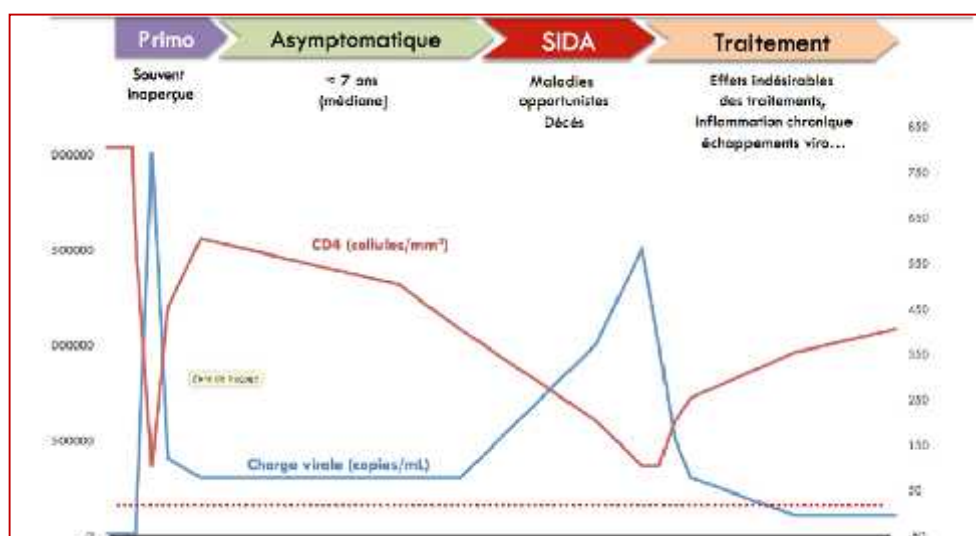


Figure. 5 Évolution naturelle de l'infection VIH (Pasquet, 2012).

II.2.1 Primo-infection

C'est la phase d'invasion du virus dans l'organisme, peu après la contamination, elle s'accompagne dans 50 à 80% des cas, de symptômes survenant entre une et huit semaines après la contamination et disparaissent en quelques semaines (Labdouni. 2019).

Dans cette phase, la quantification de l'ARN plasmatique est importante ; elle est le marqueur le plus précoce de l'infection, détectable 8-17 jours après le contage (vers j11) ; au moment du pic : 102 à 107 copies/mL de plasma et à côté la mesure de l'Ag p24 (ELISA) (fig. 6).

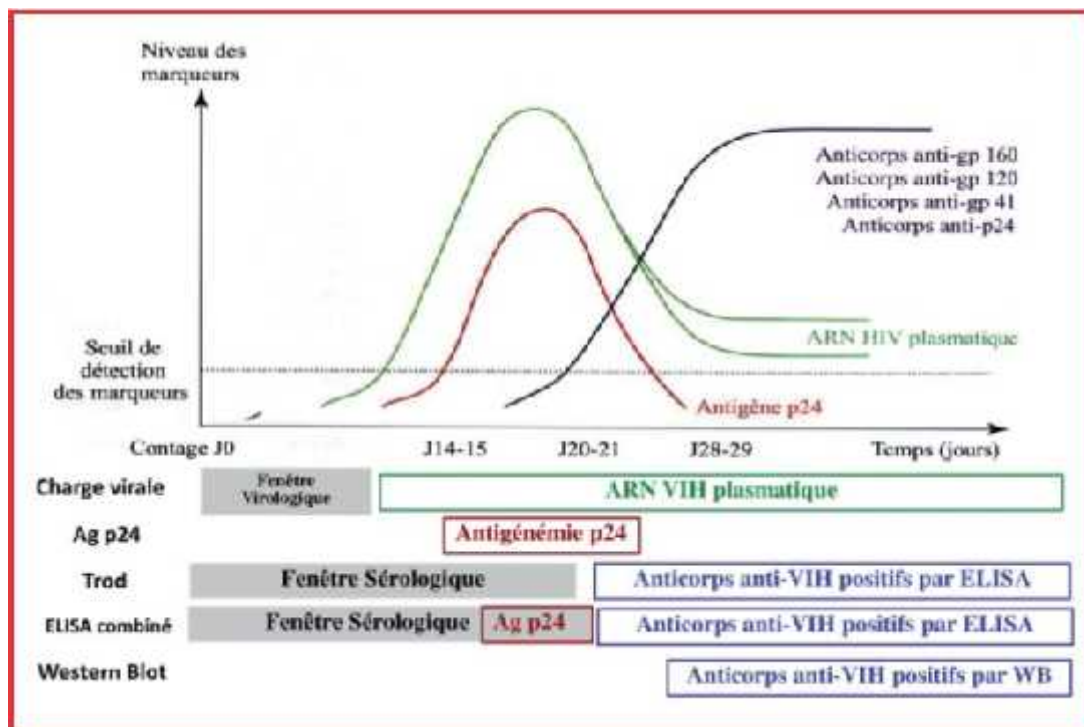


Figure.6 Chronologie de positivité des tests de dépistage en fonction de l'évolution des marqueurs virologiques au cours de la primo-infection par le VIH-1 (Beylot. 2015)

II.2.1.1 Biologiquement

La primo-infection au VIH active l'ensemble du système inflammatoire. Le pic de virémie s'accompagne souvent d'une lymphopénie transitoire, avec une baisse des lymphocytes CD4 et CD8 cytotoxique, suivie d'une augmentation rapide des lymphocytes CD8 mémoires, en 4 à 6 semaines et d'une redentée lente sur 6 à 8 mois des lymphocytes CD4 naïfs, inversant ainsi le rapport CD4/CD8. Dans cette phase on observe une leucopénie puis un syndrome mononuclosique et une augmentation modérée des transaminases (dans 50% des cas) (Labdouni. 2019).

II.2.2 La phase asymptomatique

C'est la phase d'infection chronique, cliniquement latente, mais biologiquement active puisqu'elle correspond à la phase de multiplication du virus sa durée est variable de 1 à 8 ans, dépendant de l'état général de résistances immunitaires des patients (Labdouni. 2019).

Des Ac anti VIH sont détectés dans le sang du malade, deux semaines à quelques mois après la contamination, Ces derniers, définit le caractère séropositif du malade pour le VIH et sont spécifiques de certaines protéines virales, comme Ils peuvent bloquer la pénétration du virus dans les cellules saines.

Des lymphocytes T cytotoxiques apparaissent dans le sang du sujet contaminé. Ils sont dirigés contre les cellules infectées par le VIH. Leur population diminue progressivement, au rythme moyen de 30 à 100 lymphocytes CD4 par mm³ par ans conduisant au SIDA en 10 ans (Labdouni. 2019).

II.2.2.2 Cliniquement

Quelque soit le sexe, on retrouve dans la moitié des cas un syndrome nommé « lymphadenopathie généralisée persistante ». Des adénopathies symétriques, situées dans les régions cervicales, axillaires (Labdouni. 2019).

II.2.3 Phase symptomatique mineur

Augmentation de la charge virale jusqu'à 40.000 copies /millilitre de sang et une chute du taux de TCD4. Les malades présentent à cette phase des candidoses buccales, génitales, lésion cutanées (Labdouni. 2019).

Les principales affections des muqueuses sans origine fongique insistent le médecin à demander au patient de faire un dépistage du SIDA (OMS.2020).

II.2.4 Phase symptomatique ou SIDA

Elle correspond au stade avancé de l'infection à VIH et survient pour 50% des personnes dans les 10 à 11 années après la contamination. La réplication virale déborde alors la réponse immune de l'hôte. Le nombre des lymphocytes CD4 chute rapidement et l'immunodépression s'installe. Apparaissent des infections opportunistes conduisant à terme à la mort du patient (Labdouni. 2019).

II.3 Dépistage et diagnostic biologique du VIH

Les premiers tests de sérodiagnostic de l'infection par le VIH sont apparus en France en 1985. Ils ont permis la mise en place de stratégies de dépistage. En France, c'est dans un contexte marqué par « l'affaire du sang contaminé » que le dépistage anonyme et gratuit de

l'infection, a été rendu obligatoire pour les dons de sang et les dons d'organes et de tissus (HAS.2017).

II.3.1 Stratégies de dépistage

D'après le rapport Morlat, « compte tenu des enjeux que représentent le dépistage tardif et le nombre de personnes séropositives qui ignorent leur infection, la Haute Autorité de Santé (HAS) a émis en octobre 2009, de nouvelles recommandations sur la stratégie de dépistage, modifiant radicalement l'approche élaborée en 1985 dans un contexte très différent. » En France, 150000 personnes vivent avec le VIH/SIDA et parmi elles, 24800 ignorent être infectées. En 2014, 5,3 millions de sérologies VIH ont été réalisées en laboratoire d'analyse médicale, mais 43% des découvertes de séropositivité étaient tardives (Corvih.2016).

II.3.2 Dépistage en population générale

La proposition de dépistage s'adresse à l'ensemble des personnes de 15 à 70 ans lors d'un recours au système de soins, en dehors de prise de risque identifiée (MASSMP.2013)

II.3.3 Dépistage ciblé et régulier

Il existe une stratégie de dépistage en fonction des populations et des circonstances, comme les bilans préopératoire, prénuptial et bilan pour un emploi (MASSMP.2013).

II.3.4 Dépistage prénatal universel

Les recommandations françaises les plus récentes, préconisent de proposer un contrôle sérologique à la consultation du 6ème mois de grossesse, aux femmes séronégatives exposées à un risque viral, en particulier si le partenaire est séropositif ou de statut inconnu. Mais également, de proposer un test de dépistage VIH à tous les futurs pères (MASSMP.2013).

II.3.5 Dépistage sérologique de première intention

II.3.5.1 Principe du dépistage sérologique

Le diagnostic biologique de l'infection par le VIH repose sur une stratégie en deux temps : analyse de dépistage puis analyse de confirmation. En effet, une analyse de dépistage positive sera toujours complétée par une analyse de confirmation sur le même prélèvement. L'infection par le VIH n'est établie que lorsque le résultat de l'analyse de confirmation est positif et que des résultats concordants sont obtenus sur deux prélèvements distincts. (**Fig. 7**) (HAS.2017).

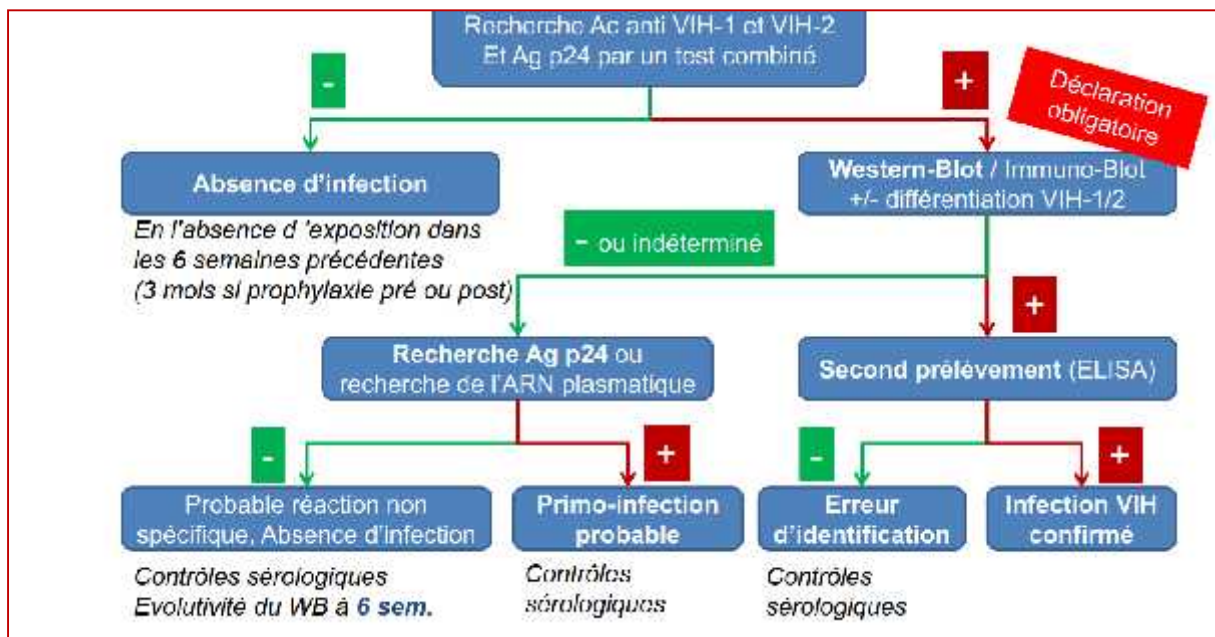


Figure.7 Schéma d'un dépistage simple (Descamps. 2015)

II.3.5.2 Test de dépistage sérologique

Ce test de dépistage repose sur une méthode immunoenzymatique de type Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) combiné de 4ème génération. Cette technique détecte à la fois les anticorps anti-VIH-1 et VIH-2 mais aussi, l'antigène p24 du VIH-1 sur le sérum ou le plasma du patient. En effet, les anticorps anti-VIH apparaissent après une période d'environ 22 jours après le contage, appelée « fenêtre sérologique » (Pasquet et Yazdanpaha. 2012).

Ce test consiste en la formation de complexes antigène-anticorps révélés par un ligand conjugué à une enzyme à substrat chromogène. Un résultat négatif de l'analyse de dépistage, signe l'absence d'infection par le VIH, sauf dans le cas d'une exposition supposée au VIH datant de moins de six semaines (figure 7) (Pasquet et Yazdanpaha. 2012).

II.3.5.3 Test de confirmation

Lorsque le test de dépistage est positif, une analyse de confirmation par Western blot ou Immunoblot doit être réalisée sur le même échantillon sanguin. Elle permet de différencier une infection à VIH-1 ou à VIH-2. (HAS.2009). Le Western blot est préparé à partir de protéines de virions purifiés.

Le western blot vérifie les spécificités des anticorps dirigés contre les protéines virales, présents dans le sérum dépisté positif. (Le Farou A.2019). Dans cette technique, les protéines virales sont séparées par électrophorèse avant d'être transférées sur une membrane de

nitrocellulose. La présence d'anticorps dirigés contre une protéine donnée est révélée par une réaction immunoenzymatique qui matérialise la position de la protéine sous la forme d'une bande colorée (Girardet *al*, 2011).

Le résultat de confirmation est négatif quand aucune bande ne correspond à une protéine virale. Par contre, si le résultat de ce test est douteux, il est nécessaire de procéder à la détection de l'ARN viral plasmatique ou de l'antigène p24 (avec un seuil de détection au moins équivalent à celui du test ELISA combiné). Cela, dans le but d'éviter toute méconnaissance d'une primo-infection au stade de pré-séroconversion (HAS.2009).

Selon les critères de positivité définis par l'OMS, un Western blot est positif s'il détecte au minimum l'association d'anticorps dirigés contre deux protéines d'enveloppe (gp41, gp120, gp160) et contre une protéine spécifique des gènes gag ou pol (Le Farou. 2012).

Si l'analyse de dépistage et de confirmation sont positives sur le même prélèvement, un second prélèvement devra obligatoirement être réalisé pour éliminer toute erreur d'identité. En revanche, l'analyse de confirmation n'est pas nécessaire si le test de dépistage est à nouveau positif. Seul un résultat positif sur ce second prélèvement, permettra de valider le résultat et d'affirmer le diagnostic d'une infection par le VIH (Pasquet. 2012).

II.4 Détection et quantification de l'antigène p24

La recherche de l'Ag p24 fait appel à des tests ELISA « sandwich » dits tests combinés, capables de détecter l'Ag p24 en même temps que les anticorps anti-VIH, elle est intéressante pour diagnostiquer une infection à VIH au moment de la phase aigüe de primo-infection : en effet, à cette phase, l'Ag p24 peut être présent dans le sang en quantité élevée alors que les anticorps anti-VIH ne sont pas encore apparus (OMS.2020).

Cette recherche est réservée au diagnostic précoce d'une primo-infection et au dépistage dans le cadre de dons du sang ou d'organe. En effet, l'antigène se négative en une à deux semaines avec l'apparition des anticorps (Le Farou.2012).

II.5 Diagnostic moléculaire et suivi de l'infection

Bien que le diagnostic de certitude d'infection par le VIH soit obtenu grâce à la sérologie, la recherche directe du virus ou de ses constituants reste une méthode importante pour le dépistage, le diagnostic précoce et le suivi des patients infectés (Le Farou. 2012).

II.5.1 Quantification de l'ARN viral par PCR

Elle fait appel à une technique de biologie moléculaire d'amplification génique appelée PCR (*Polymerase Chain Reaction*), la quantité d'ARN viral correspond à la charge virale et constitue un critère de suivi important du traitement antiretroviral.

C'est la seule technique permettant de faire le diagnostic de l'infection à VIH chez les enfants exposés avant l'âge de 18 mois ou en cas de primo-infection avant que les anticorps ne soient détectables (OMS. 2020).

La technique d'amplification génique la plus employée pour la quantification de l'ARN virale est celle dite « de RT-PCR (Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction) en temps réel » qui est plus sensible. Elle est utilisée de manière quantitative pour estimer le niveau de réplication du VIH dans l'organisme infecté (Tse et Capeau. 2003).

Cette quantification porte alors sur le virus libre plasmatique, en mesurant l'ARN viral ou charge virale plasmatique. La charge virale s'exprime en copies/mL ou sous forme logarithmique décimale (Tse et Capeau. 2003).

II.10 Traitement

II.1 Les antirétroviraux

L'objectif des médicaments (ARV) utilisés contre le VIH est de bloquer les différentes étapes de son cycle de réplication dans les cellules infectées mais aussi, de réduire sa capacité à infecter de nouveaux lymphocytes ou cellules CD4+.

La prise en charge de chaque patient est particulière, l'objectif est d'avoir un contrôle régulier de la charge virale et du taux de CD4, et de ne traiter que lorsque le taux de CD4 descend trop bas, notamment en dessous de 200 par mm³, ou lorsque la charge virale est trop élevée, notamment supérieure à 100000 par mm³ (Kinugawa *et al*, 2010).

Actuellement, aucun traitement n'a permis d'éliminer le virus de l'organisme. Plusieurs molécules ont démontrés une efficacité *in vivo* en ralentissant la réplication virale. Ils sont classés en fonction de la cible virale sur laquelle ils agissent (INRT, INNRT et les IP).

Le but de ces traitements est de retarder l'apparition des infections opportunistes, d'augmenter la qualité et l'espérance de vie du patient (Gayraud et Lortholary. 2010).

La liaison du virus HIV-1 à un récepteur présent à la surface de la cellule hôte active la protéine P2Y2, nécessaire à la fusion des membranes qui permet l'entrée des virus, cette

protéine a un partenaire la protéine NLRP3, qui s'avère jouer un rôle déterminant l'infection. Cette dernière favorise la production de cytokine pro-inflammatoire. Mais en 2019 le même chercheur découvre qu'elle empêche le virus d'entrer et reste bloqué à l'extérieur. (Paoletti et al, 2019).

Il existe six classes d'antirétroviraux (ARV), sont actuellement disponibles :

- Les inhibiteurs nucléotidiques de la TI ;
- Les inhibiteurs non nucléosidiques de la TI ;
- Les inhibiteurs d'intégrase (II) ;
- Les inhibiteurs d'entrée de deux sortes : les inhibiteurs de la fusion, comme le T20 ou enfuvirtide (se fixant sur la gp41, ils en empêchent le repliement), et les antagonistes du corécepteur CCR5 ;
- Les inhibiteurs de la protéase (**fig. 8**).

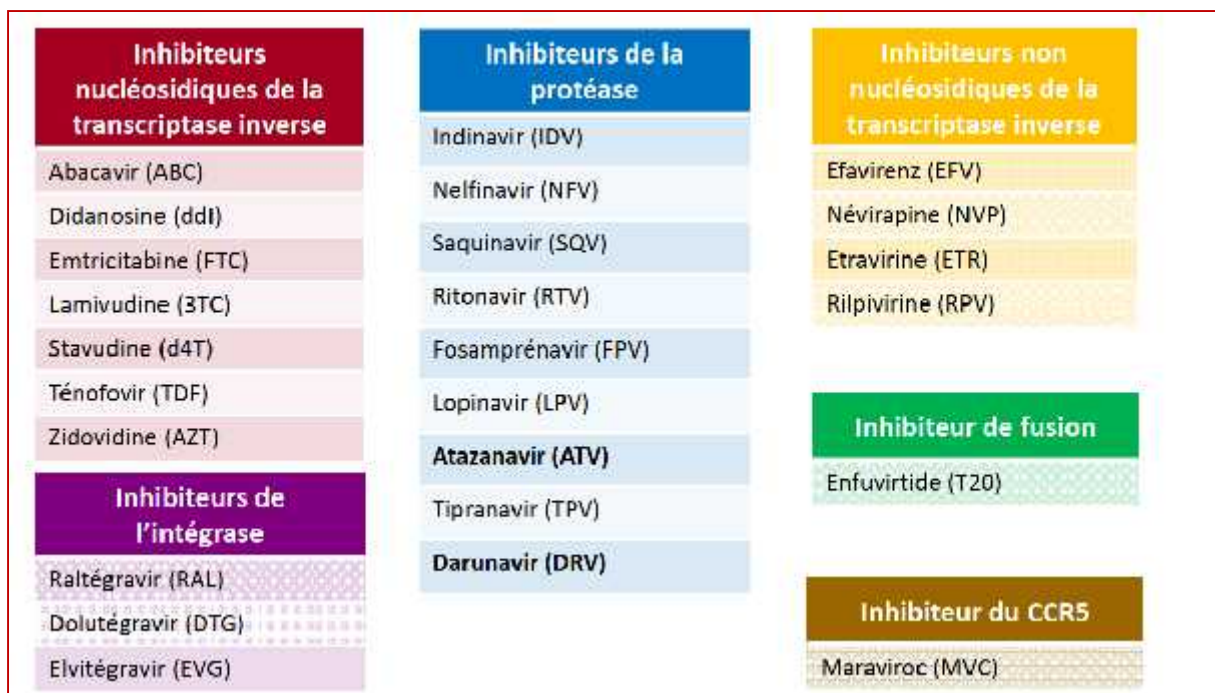


Figure.8 les différents antirétroviraux du VIH (Descamps.2015)

Les principaux objectifs du traitement ARV :

- maintenir ou restaurer un nombre de LT-CD4+ supérieur à 500/mm³
- De diminuer la morbidité et la mortalité
- De maintenir une charge virale plasmatique indétectable (< 50 copies/mL)
- De prévenir et traiter les infections opportunistes
- La meilleure tolérance possible clinique et biologique

- De limiter les effets secondaires des traitements
- De prévenir la transmission sexuelle du virus (MASSMP. 2017).

Aujourd'hui, le traitement de l'infection à VIH s'est considérablement simplifié avec la disponibilité de plusieurs associations fixes comprenant 3 ARV sous une forme combinée en un seul comprimé par jour. (Avendet-Fenoel. 2017). Trithérapie (2 IN + IP) à débiter le plus tôt possible et pas au delà de 48h on parle d'une prophylaxie post-exposition d'une durée de 28 jours (Ambrosioni, et al, 2014).

II.10.2 Resistance aux antirétroviraux

Malheureusement dans certains cas les médicaments ARV n'ont pas une capacité robuste contre les résistances du virus HIV cause de son nombre de mutations requises (erreurs de rétrotranscription, mutations introduites par la cellule infectée et les recombinaisons) (Descamps.2015).

II.10.2.1 Mécanisme de résistance

INTI : Diminution d'affinité sélective pour les inhibiteurs Excision des inhibiteurs après fixation.

INNTI : Modification de la poche de fixation. Résistance naturelle du VIH-2 : accès bloqué à la poche de fixation

IP : Diminution sélective d'affinité

Inhibiteurs d'entrées : T20 : diminution d'affinité Anti-CCR5 : changement de tropisme, changements d'affinité pour le corécepteur CCR5 (Descamps.2015).

L'Algérie incluse dans la licence médicaments à base de Dolutégravir (DTG) le 12/09/2020, l'a annoncé le représentant de l'ONUSIDA Algérie relevant l'efficacité thérapeutique de cette molécule ainsi que son impact économique positif pour le pays. L'Algérie rejoint ainsi les 94 pays faibles revenus et intermédiaires inclus dans la licence la fabrication de médicaments abordables et de qualité au profit des personnes vivants avec le VIH SIDA.

L'Algérie va s'atteler davantage à réunir les moyens possibles pour renverser le processus de propagation de l'épidémie du SIDA, afin d'y mettre fin d'ici 2030 (département ministériel de la santé. 2020).

II.10.3 Le suivi thérapeutique des patients

Le suivi thérapeutique des patients recevant un traitement ARV consiste en une surveillance clinique, biologique et immuno-virologique qui a pour but d'évaluer l'efficacité du schéma thérapeutique. Après l'initiation d'un traitement, le patient doit être revu entre 2 et 4 semaines après l'instauration (Pasquet et Yazdanpanah.2012).

II.10.3.1 Surveillance clinique

A chaque consultation, l'examen clinique permet de détecter d'éventuels signes d'intolérance aux antirétroviraux cités précédemment (effets indésirables des ARV). Mais, il est aussi l'occasion de s'assurer de l'absence de certains symptômes qui pourraient être évocateurs d'une infection opportuniste débutante (LacombeEt Girard. 2003).

II.10.3.2 Surveillance biologique

Le bilan standard évalue la tolérance biologique des médicaments et peut mettre en évidence une toxicité liée aux antirétroviraux. Ce bilan trimestriel comporte au minimum : Numération Formule Sanguine (NFS)/plaquettes, créatininémie et transaminases.

I.10.3.3 Surveillance immuno-virologique

Le suivi virologique repose sur la mesure de l'ARN-VIH plasmatique « charge virale » et le typage lymphocytaire (Beylot .2015).

Après l'obtention d'une charge virale indétectable (CVI), un suivi trimestriel la première année puis, au moins semestriel est proposé, intercalé d'un bilan annuel de synthèse hospitalière.

En revanche, les PVVIH dont le taux de lymphocytes CD4+ reste inférieur à 200/mm³ doivent poursuivre une surveillance hospitalière trimestrielle (MASSMP.2013).

Engagement : garantir l'accès au traitement aux 30 millions de personnes vivants avec le VIH grâce à l'attente des objectifs 90-90-90 d'ONUSIDA.

II.11 Immunité naturelle

Jusqu'à présent, seule une mutation était bien connue des scientifiques, découvertes sur une personne à Berlin, guéri du VIH par le biais d'une greffe de cellules souches contenant une mutation rare du gène CCR5, qui confère une immunité naturelle contre le virus de HIV. Ainsi les chercheurs vont désormais tenter d'exploiter le gène TNP03 pour développer des médicaments permettant de barrer la route au virus (www.lesechos.fr.2019).

L'immunité naturelle contre l'infection par le VIH existe. Un groupe de chercheurs américains vient (peut-être) d'en découvrir l'origine : des protéines, appelées « défensines », Produites par les lymphocytes CD8, sont retrouvées en abondance chez les personnes infectées qui ne développent pas la maladie (Muzafar. 2018).

II.12Épidémiologie de l'infection par le VIH

II.12.1Épidémiologie dans le monde

Tableau 3. Données mondiale sur le VIH (ONUSIDA, 2018)

Indicateurs/Années	2000	2005	2010	2012	2013	2014	2015	2016	2017
Nombre PVVIH*	27.7	33.2	33.2	34.3	34.9	35.5	36.1	36.7	36.9
Nombre de personnes nouvellement infectées*	3.0	2.5	2.2	2.1	2.0	2.1	1.9	1.8	1.8
Nombre de personnes décédées*	1.5	1.8	1.8	1.3	1.2	1.1	1.1	1.0	940000
Nombre personnes ayant accès au traitement antirétroviral*	685000	2.05	7.7	11.2	13.1	15.1	17.1	19.5	21.7

* en millions

II.12.1.1 Statistiques mondiales sur le VIH en 2019

A l'occasion de la conférence AIDS 2020, l'ONUSIDA vient de publier les nouveaux chiffres de l'épidémie VIH. En 2019, le monde comptait ainsi 38 millions de personnes vivant avec le VIH, dont 1.8 million d'enfants. Avec 1.7 million de personnes nouvellement infectées en 2019, nous sommes encore loin des moins de 500 000 nouveaux cas, but fixé pour 2020 par l'ONUSIDA. Selon les auteurs du rapport, ces données pointent une lenteur dans les progrès accomplis en matière de prévention de l'infection.

Quatorze pays ont atteint le triple objectif 90-90-90 du traitement contre le VIH, (90% des personnes vivant avec le VIH connaissent leur statut sérologique ; 90% des personnes se sachant séropositives suivent un traitement antirétroviral ; 90% des personnes sous traitement antirétroviral présentent une charge virale indétectable).

Si le déploiement des traitements ARV a sauvé des vies et éviter de nouvelles infections, 690 000 personnes sont décédées à la suite de maladies opportunistes liées au sida

l'an dernier (2019). 12,6 millions sur les 38 millions de personnes vivant avec le VIH n'avaient pas eu accès au traitement vital. À la fin de l'année 2019, 18,6 milliards de dollars US étaient disponibles pour la lutte contre le VIH / sida dans les pays à faibles revenus ou revenus intermédiaires.

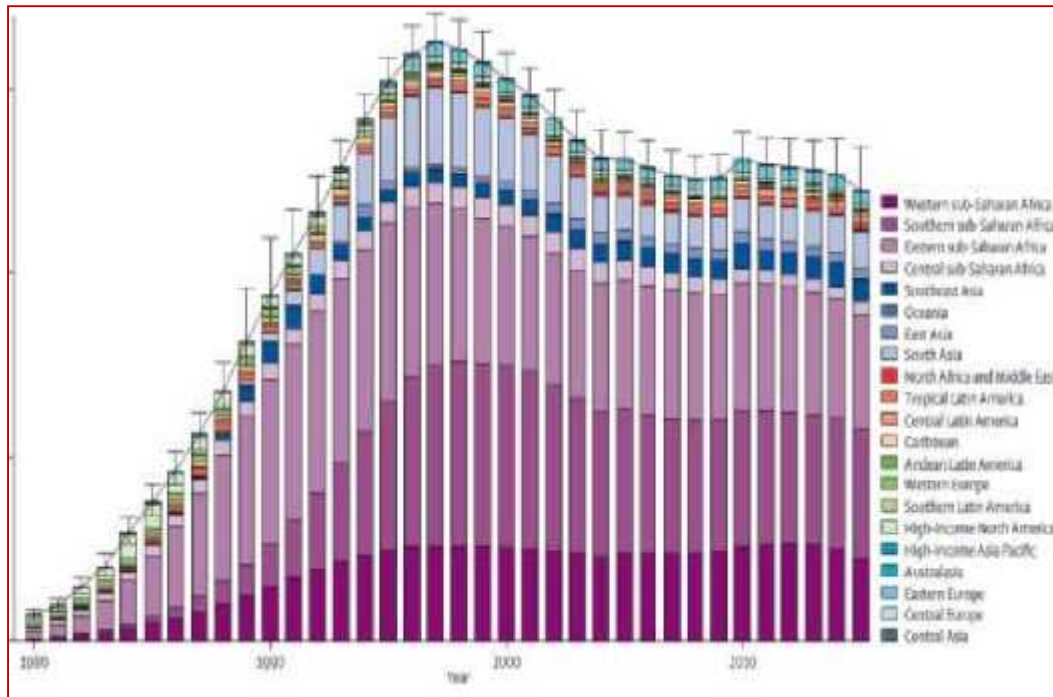


Figure.9 Incidence des nouvelles infections à VIH entre 1980 et 2015 par régions mondiales
(Global Burden Disease 2015 HIV collaborators)

Les chiffres 2019 à retenir : ONUSIDA.2019

- ❖ 38 millions de personnes vivent avec le VIH dans le monde
- ❖ 1,7 million de personnes ont été infectées
- ❖ 25,4 millions de personnes avaient accès à la thérapie antirétrovirale
- ❖ 690 000 personnes sont décédées de maladies liées au sida dans le monde

II.12.2 Épidémiologie du VIH en Algérie

La situation épidémiologique du VIH en Algérie se caractérise par une épidémie de type peu active, avec une prévalence faible inférieure à 0.1% dans la population générale mais concentrée au niveau des populations vulnérables PS (ONUSIDA, 2014).

Au 31 décembre 2016, et depuis le début de l'épidémie, selon le LNR un total cumulé de 11 400 personnes ont été diagnostiquées séropositives pour le VIH (avec comme stéréotype le VIH1 à plus de 99%), le nombre de décès cumulé depuis le début de l'épidémie est de 1849.

Entre le 1er janvier et le 31 Décembre 2016, 769 cas diagnostiqués positifs au VIH ont été notifiés au LNR (390 hommes et 379 femmes) dont 119 au stade de sida représentant 15% du nombre de personnes diagnostiquées (**fig. 10**).

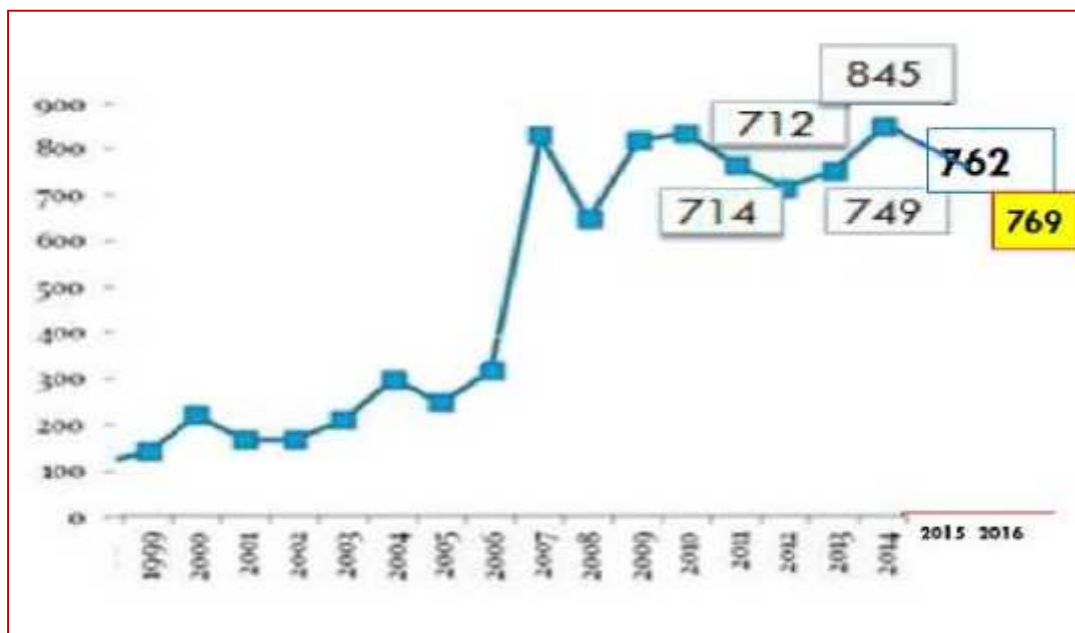


Figure.10 Nouvelles infections avec le VIH/an en Algérie (Razik. 2017)

D'après le ministère de la sante et l'ONUSIDA Algérie le nombre de personnes infectées par le VIH, tout âge confondu, a atteint en 2018, 1300 cas, alors que le nombre de positifs frôle les 16000 cas, dont 15000 âgés de plus de 15 ans, 7000 femmes et 8300 hommes.

Un total de 673 nouveaux cas de 1^{er} janvier à 30 septembre 2019 à affirmer le responsable du laboratoire national de référence (LNR) du VIH-SIDA le P^r Salima Bouzeghoub.

Plus de 2000 nouvelles infections, au VIH SIDA, dont 150 ayant entraîné des décès, ont été enregistrées depuis 2019 en Algérie, a annoncé, le directeur de l'ONUSIDA Algérie Adel Zeddami, notant les répercussions négatives de la pandémie du coronavirus sur la riposte au SIDA dans le monde.01/12/2020. A affirmé encore que 22000 personnes vivantes avec le VIH SIDA recensées, à ce jour, dans le pays dont 15000 sont soumises au traitement.

Le ministre de la sante algérien Abderhman Benbouzid a insisté sur la volonté de poursuivre les efforts a fin de relever le défi, à travers la mise en œuvre du plan national stratégique de lute contre les IST/VIH/SIDA 2020-2024.

Le nombre de personnes séropositives dépistées qui ont pu connaitre leur statut vis-à-vis du VIH, de l'ordre de 86%, ces dernières années, selon les estimations de l'ONUSIDA, soit à 4 point du premier objectif des 90.90.90. Pour 2020 (**fig. 11**).

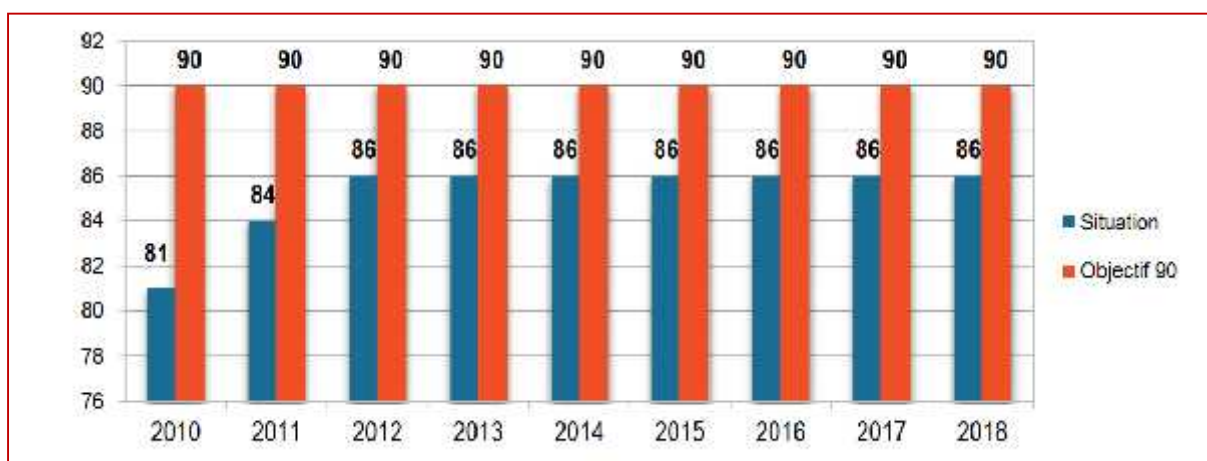


Figure.11 Évolution du taux de personnes dépistées connaissant leur statut VIH 2010-2018

Source : Estimation Spectrum ONUSIDA 2018

Le nombre de décès d'adultes et d'enfants dus au Sida en Algérie estimé, connait une tendance baissière chez les deux genres (femme et homme) : La diminution du nombre de décès est plus marquée chez la femme, à partir de 2009, pour atteindre 50 cas en 2018. Chez l'homme, cette diminution est observée à partir de 2012 pour atteindre 100 décès en 2018 (**Fig. 12**).

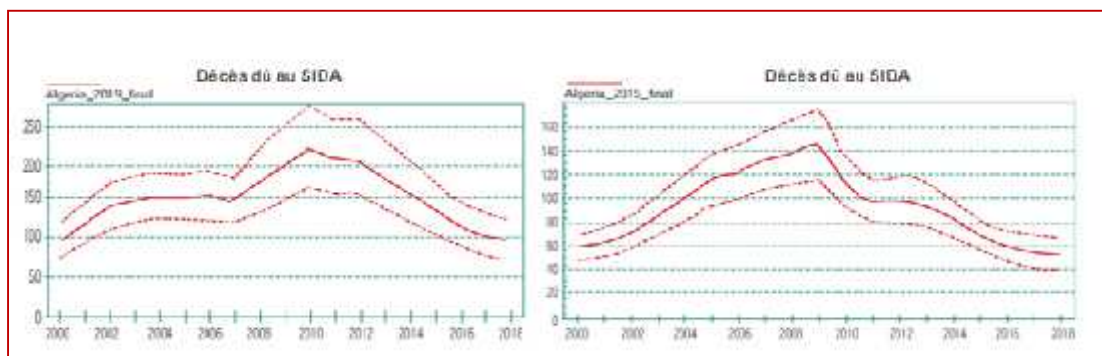


Figure.12 Évolution du nombre de décès par VIH chez les deux genres en Algérie de 2000 à

2018. Source : Estimation Spectrum ONUSIDA 2018

1.12.3 Épidémiologie au niveau de la wilaya de Tizi-Ozou

Dans la wilaya de TO, la situation épidémiologique est caractérisée par 174 cas dont 127 séropositifs et 47 cas de SIDA avérés, cinq (05) nouveaux cas de séropositifs et un (01) cas de SIDA ont été enregistrés de janvier 2018 au septembre, a indiqué D^r Toudeft Fadhila, chef de service de prévention au niveau du CHU.DSP de TO.

25 cas de contamination par le VIH enregistrés en 2019. 16 cas des hommes et 8 cas des femmes âgés de 20-40 ans et 01 nourrisson de 11 mois qui sont pris en charge dans le service des maladies infectieuses du CHU Neddir Mohamed de Tizi Ouzou, alors qu'en 2018 il n'enregistrait que 07 cas positifs (DSP TO. 2020).

Chapitre II
Matériels et Méthodes

I. Matériels

I.1 Lieu d'étude

L'étude a été menée au niveau du laboratoire de Microbiologie-Parasitologie du centre hospitalo-universitaire Neddir Mohamed de TiziOuzou.

I.2 Période d'étude

Il s'agit d'une étude rétrospective, descriptive d'ordre épidémiologique. L'étude sérologique s'est déroulée de février, jusqu' à novembre 2020 avec interruption cause de la pandémie de la covid 19, car les prélèvements destinés à la RT-PCR pour dépistage du coronavirus sont préparés au niveau de ce laboratoire, puis acheminés à l'université Mouloud MAMMMERI au laboratoire d'immunologie.

Les données épidémiologiques du VIH/SIDA de cette étude sont récoltées depuis, l'installation de la PCR en 2014, et l'ELISA en juillet 2020. Sachant qu'au par avant les sérologies du VIH/SIDA sont envoyées à l'institut pasteur d'Alger.

I.3 Population d'étude

Sont inclus dans cette étude quelques patients ayant une sérologie VIH positive et qui sont suivis au service des maladies infectieuses du CHU de TO, les volontaires pour ce faire dépister après avoir eu contact avec le virus et les dépistages systématiques, ce sont des personnes qui se présentent au laboratoire avec un bilan demandé par le médecin, généralement, pré-opératoires, pré-nuptial ou recrutement.

I.4 Supports des données

Les bases de cette étude sont les registres d'enregistrement du laboratoire de microbiologie tout particulièrement la salle de sérologie. Malheureusement on n'a pas pu avoir accès aux dossiers des malades atteints du VIH cause de la pandémie covid 19. L'anonymat de la population d'étude est strictement respecté.

I.5 Échantillons biologiques

L'analyse des échantillons se fait sur plasma recueilli sur tubes EDTA préalablement conservé à -30°C.

I.6 Techniques utilisées

I.6.1 ELISA

C'est un test immunologique spécifique qui utilise des Ac pour diagnostic d'une maladie bactérienne ou virale. (Marvel, 2020).

Le Kit d'ELISA contient :

Plaquette de 96 puits ;

Echantillon d'un anticorps cible ;

Standard calibre de l'anticorps cible ;

Antigène purifié qui cible l'anticorps qui devra s'y lier ;

Anticorps secondaire marqué qui se liera à une cible d'anticorps qui se liera à l'anticorps cible ;

Tampon de coating (50 mM sodium Carbonate, pH 9.5);

Tampon de lavage ;

Tampon de blocage (10Mm Tris, pH 7.2, 10% (w/v) d-Gluconic Acid, 5 % (w/v) BSA)

Diluant des anticorps (PBS)

Substrat colorimétrique

Solution stop

Lecteur de plaque ELISA

NB : les composants du kit ELISA doivent être conservés entre 2-8°C et sont valables jusqu'à 15 jours après l'ouverture (**fig.13**).



Figure.13 Les différents composants du Kit de diagnostic HIV-1/HIV-2 (ELISA)

I.6.1.1 Avantages du test ELISA

- L'utilisation d'anticorps monoclonaux rend la détection spécifique ;
- Possibilité de quantifier grâce à la réalisation d'une gamme en parallèle ;
- L'utilisation d'anticorps secondaires rend la technique sensible ;

- Technique accessible à tous les biologistes ;
- La détection du signal ne nécessite pas la présence d'appareillage spécialisé ;
- La validité des trousse est d'environ un an.

I.6.1.2 Limites du test ELISA

La réaction enzymatique rend cette technique dépendante de la température, du pH et de l'éclairement

I.6.2 La PCR :

La PCR (Polymerase Chain Reaction) est fondée sur une réaction enzymatique in vitro permettant d'amplifier plusieurs millions de fois des séquences d'ADN génomique ou d'ADN complémentaire (ADNc, généré par transcription inverse à partir d'une molécule d'ARN). Elle nécessite de connaître les séquences des extrémités de la région à amplifier, et de les utiliser pour élaborer des amorces nucléotidiques (Uhel et *al*, 2019).

L'ARN viral est détectable dès 7 à 10 jours après la contamination, ce dernier est quantifié à partir d'un plasma par PCR en temps réel sur des automates fermés. Ces techniques permettent de déterminer la « charge virale », qui est le nombre de copies d'ARN viral par ml de plasma. Plus ce nombre est élevé, plus l'infection évolue rapidement vers le SIDA (Uhel et *al*, 2019).

NB : la valeur seuil de la trousse de réactif spécifique à ce COBAS est de 20 copies/ml.

I.6.2.1 Avantages de la PCR

- Simplicité et rapidité ;
- Grande sensibilité et spécificité ;
- Diminution du risque de contamination post PCR. (Toutes les réactions dans un automate fermé) ;
- Traçabilité : détection, enregistrement et analyses intégrés ;
- Possibilité de quantification et d'automatisation.

I.6.2.2 Limite de la PCR

- La grande variabilité génétique des virus, nécessitant donc de développer des essais spécifiques à chaque sous-classe virale (Tse et Capeau, 2003).
- Le risque de vrai négatif par inhibition de l'ADN polymérase. L'analyse en parallèle d'un contrôle interne positif permettrait d'y remédier (Tse et Capeau, 2003).
- Le risque de résultats faussement positifs par contamination
- risque de résultats faussement négatifs liés à la présence d'inhibiteurs de PCR dans le liquide biologique, par inhibition de l'ADN polymérase. L'analyse en parallèle d'un contrôle interne positif permettrait d'y remédier (Tse et Capeau, 2003).

I.6.3 Spectrophotométrie ARCHITECT

C'est un appareil très performant utilisé dans les laboratoires d'analyses médicales pour dosages des différentes sérologies (**figure. 14**).



Figure. 14 L'appareil ARCHITECT

I.6.4 Test rapide TROD

Le TROD (Test Rapide d'Orientation Diagnostic) permet d'avoir un résultat en 20 minutes maximum. Il est fiable 3 mois après une prise de risque VIH (**fig.15**)



Figure.15 Kit du Test rapide TROD

II. Méthodes

II.1 La RT-PCR et la PCR en temps-réel

II.1.1 La RT-PCR (Reverse Transcriptase PCR)

Il peut s'avérer pertinent d'extraire les ARNm pour générer ensuite des copies d'ADNc. Cette réaction est catalysée par la transcriptase inverse des rétrovirus (reverse transcriptase) qui synthétise une chaîne d'ADN à partir d'une matrice d'ARN.

Dans un premier temps, les ARN totaux sont extraits. Les ARNm sont isolés à partir des ARN totaux par chromatographie d'affinité grâce à des oligodT (oligonucléotidopolyT), car les ARN messagers se caractérisent par une séquence polyA en 3'. Puis, les ARNm sont soumis à la transcriptase inverse qui va générer une copie d'ADN (ADNc) de chaque ARNm.

A l'issue de la transcription inverse, les ARNm sont hydrolysés (traitement alcalin, RNase ou température). Les étapes suivantes sont réalisées dans l'enceinte du thermocycleur. Les ADNc monocaténaire sont alors répliqués par l'ADN polymérase au cours d'un premier cycle de température. D'autres cycles sont réitérés afin d'amplifier les ADNc bicaténaire en grande quantité.

Ces techniques permettent de déterminer la "charge virale", c'est-à-dire le nombre de copies d'ARN viral par ml de plasma. Une détermination de la charge ARN VIH plasmatique est proposée en pratique médicale courante de façon systématique à raison de 2 à 4 tests par an chez les sujets sous traitement antirétroviral.

Les tests commerciaux classiquement utilisés dans les laboratoires permettent de quantifier le VIH-1 groupe M, certaines techniques quantifient aussi le groupe O. Le recours à des laboratoires spécialisés est nécessaire pour quantifier la charge virale du VIH-2.

II.1.2 La PCR en temps réel

II.1.2.1 le principe

L'amplification génique ou PCR a pour but de détecter l'ADN proviral dans les cellules mononucléées circulantes. La difficulté majeure de la PCR est celle du choix des amorces du fait de la très grande variabilité du VIH. Il est indispensable d'utiliser au moins deux paires d'amorces reconnaissant des régions hautement conservées dans des gènes différents (gag, pol ou LTR) pour couvrir la diversité génétique des VIH-1 du groupe M et des amorces spécifiques en cas de VIH-1 du groupe O ou de VIH-2.

Le risque majeur de la PCR est donc un résultat faussement négatif, les résultats faussement positifs étant liés à des contaminations.

Dans notre travail la PCR s'est réalisée avec un COBAS, AmpliPrep. Et amplificateur COBAS TaqMan 48 (**fig. 16**).



Figure. 16 COBASAmpliPrep Et amplificateur COBAS TaqMan

Ces techniques permettent de déterminer la "charge virale", c'est-à-dire le nombre de copies d'ARN viral par ml de plasma. Une détermination de la charge ARN VIH plasmatique est proposée en pratique médicale courante de façon systématique à raison de 2 à 4 tests par an chez les sujets sous traitement antirétroviral.

Les tests commerciaux classiquement utilisés dans les laboratoires permettent de quantifier le VIH-1 groupe M, certaines techniques quantifient aussi le groupe O. Le recours à des laboratoires spécialisés est nécessaire pour quantifier la charge virale du VIH-2.

II.1.2.2 Protocole opératoire

Pour lancer la PCR, l'appareil utilisé dans le laboratoire de microbiologie du CHU de TO est le COBASAmpliPrep, le nombre de prélèvements doit atteindre 21 pour lancer la PCR pour ne pas gaspier les kits adéquats car leur validité n'est valable qu'une semaine après l'ouverture. Il faut tenir compte du prix excessif de chaque kit.

NB : La PCR est réalisée sur des sérums déjà testés positifs à l'Architect (recherche de repense immunitaire).

Une fois les sérums décongelés, ils sont soumis à une centrifugation à 4000tr/mn pendant 7 minutes dans la centrifugeuse à tube à hémolyse.

La PCR est basée sur un cycle de dénaturation - hybridation - élongation, chacune de ces étapes étant « pilotée » par une température différente.

II.1.2.2.1 Préparation des échantillons

Les échantillons sont préparés automatiquement à l'aide d'une technique générique de capture basée sur la silice. Les particules du VIH sont lysées par incubation à des températures élevées à l'aide d'une protéase et d'un tampon de liaison/lyse chaotrope qui libère des acides nucléiques et protège l'ARN du VIH des ARNases du plasma (POITRAS et HOUDE 2002).

La protéase est une quantité connue de molécule d'ARN Standard de quantification (QS) du VIH sont introduit dans chaque échantillon avec le réactif de lyse et des particules magnétiques en verre. Ensuite, le mélange est incubé et l'ARN du VIH, l'ARN du QS du VIH se lie à la surface des particules magnétiques en verre. Les substances non liées, telles que les sels, les protéines et autres impuretés cellulaires sont retirés par lavage des particules magnétiques en verre. (POITRAS et HOUDE 2002).

Les acides nucléiques chargés négativement absorbés par les particules magnétiques chargées positivement sont élués à température élevée avec une solution aqueuse. L'échantillon traité, contenant des particules magnétiques, l'ARN libéré du VIH et l'ARN du QS du VIH est ajouté au mélange d'amplification et transféré sur l'analyseur (POITRAS et HOUDE 2002).

L'ARN cible du VIH et l'ARN du QS du VIH sont ensuite transcrits inversement, amplifiés et simultanément détectés par clivage de deux sondes spécifiques aux cibles et d'une sonde oligonucléotidique marquée spécifique au QS (POITRAS et HOUDE 2002).

III.1.2.2.2 Transcription inverse et amplification par PCR

La réaction de transcription inverse et d'amplification par PCR sont effectuées avec l'ADN polymérase de l'enzyme recombinante thermostable. En présence de magnésium (Mn^{2+}) et sous conditions tampon appropriées, la polymérase exerce à la fois les activités de transcriptase inverse et d'ADN polymérase. Ceci permet à la transcription inverse et à l'amplification par PCR de se produire en même temps que la détection en temps réel de l'amplification ce qui la rends plus rapide que la PCR classique (POITRAS et HOUDE 2002).

Les échantillons sont ajoutés au mélange d'amplification dans des tubes K d'amplification dans les quels s'effectuent la transcription inverse et l'amplification par PCR. Le mélange réactionnel est chauffé pour permettre aux amorces anti-sens de s'hybrider spécifiquement à l'ARN cible du VIH et à l'ARN du QS du VIH. En présence de Mn^{2+} et d'un excès de désoxyguanosine, desoxyuridine et desoxythymidine, la polymérase allonge les amorces hybridées, produisant ainsi des brins d'ADN (POITRAS et HOUDE 2002).

Après la transcription inverse de l'ARN cible du VIH, le thermocycler des analyseurs chauffe le mélange réactionnel afin de dénaturer les hybrides ARN-ADNc et d'exploser les séquences cibles de l'amorce spécifique. Pendant que le mélange refroidit, les amorces s'hybrident à l'ADN cible. En présence de Mn^{2+} , desoxyguanosine, desoxycytidine, desoxyuridine et desoxythymidine, la polymérase allonge les amorces hybridées le long des amorces des matrices cibles ce qui génère des molécules d'ADN bicaténaire appelés amplicons (POITRAS et HOUDE 2002).

L'analyseur répète automatiquement cette opération pendant un nombre de cycles défini, chaque cycle doublant effectivement la quantité d'ADN de l'amplicon. Le nombre de cycle nécessaire est pré-programmé dans l'analyseur. L'amplification n'a lieu que dans les deux régions du génome du VIH située entre les amorces. Le génome du VIH n'est pas entièrement amplifié (POITRAS et HOUDE. 2002).

L'amplification sélective de l'acide nucléique cible de l'échantillon est assurée grâce à l'utilisation de l'enzyme Uracile-N-glycosylase (AmpErase) et de desoxyuridine triphosphate (dUTP). L'enzyme AmpErase reconnaît et catalyse la destruction des brins de la desoxyuridine, mais pas celle de l'ADN contenant de la desoxythymidine. L'ADN naturel ne contient toujours pas de desoxyuridine, mais l'amplicon en contient toujours du fait de l'utilisation de desoxyuridine triphosphate en tant que l'un des dNTP du mélange réactionnel ; ainsi seul l'amplicon contient de la desoxyuridine (Poitras et Houde. 2002).

La présence de desoxyuridine permet la destruction des amplicons contaminants par l'enzyme AmpErase avant l'amplification de l'ADN cible. De même, tout produit non spécifique formé après l'activation initiale du mélange réactionnel par le manganèse est détruit par l'enzyme AmpErase. Cette dernière fait partie du mélange réactionnel, catalyse le clivage de tout ADN contenant de la desoxyuridine au niveau d'un résidu de desoxyuridine en ouvrant la chaîne de désoxyribose en position C1. Lorsque elle est chauffée au cours de la première étape du thermocyclage, la chaîne d'ADN de l'amplicon se casse au niveau de la desoxyuridine, ce qui rend l'ADN non amplifiable (POITRAS et HOUDE 2002).

L'enzyme AmpErase reste inactive pendant une période prolongée une fois qu'elle est exposée à des températures supérieures à 55°C, c'est-à-dire pendant les étapes de thermocyclage, et ne détruit donc pas l'amplicon cible formé pendant l'amplification (POITRAS et HOUDE. 2002).

II.1.2.2.3 Les produits de la PCR

L'utilisation de sondes fluorescentes doublement marquées permet une détection en temps réel de l'accumulation des produits de la PCR par contrôle de l'intensité d'émission de fluorophores rapporteurs libérés durant la procédure d'amplification (POITRAS et HOUDE 2002).

Ce sont des sondes oligonucleotidiques spécifiques du VIH et spécifique du QS du VIH avec un fluorophore rapporteur et un fluorophore quencher (suppresseur). Au cours de ce test ces sondes sont marquées au moyen de différents rapporteurs (POITRAS et HOUDE 2002).

Pendant la PCR, la sonde s'hybride à la séquence cible et est clivée par l'activité nucléase 5' à 3' de l'ADN polymérase thermostable (POITRAS et HOUDE 2002).

Les amplifications de l'ARN du VIH et de l'ARN QS du VIH sont mesurés indépendamment à des longueurs d'ondes différentes. Ce processus est répété pour un nombre déterminé de cycles, chaque cycle augmente efficacement l'intensité d'émission des fluorophores rapporteurs individuels, permettant une identification indépendante de l'ARN du VIH et de l'ARN du QS du VIH. Le cycle PCR est lié à la quantité de produit de départ au début de la PCR (POITRAS et HOUDE 2002).

II.1.2.2.4 Quantification de l'ARN du VIH

La charge virale (CV) de l'ARN du VIH est déterminée en utilisant une seconde séquence cible (QS), dont une concentration connue est ajoutée à chaque échantillon à analyser (Poitras et Houde 2002).

Pendant la phase d'hybridation de la PCR dans l'analyseur, les échantillons sont illuminés et excités par une lumière filtrée et les données de fluorescence d'émission filtrées sont recueillies pour chaque échantillon, ensuite elles sont traitées dans le but de générer des valeurs critiques de l'ARN du VIH et de l'ARN du QS du VIH. Les mesures pour chaque échantillon sont stockées et des vérifications sont effectuées pour déterminer si les données de l'ARN du VIH et de l'ARN du QS du VIH représentent des ensembles valides (Poitras et Houde 2002).

Les mesures de fluorescences sont traitées dans le but de générer des valeurs seuils critiques (Ct) de l'ARN du VIH et de l'ARN du QS du VIH qui sont la base de calcul de la valeur de titre de l'échantillon et de contrôle (Tse et Capeau. 2003).

Quantification absolue par étalonnage avec un standard : les cinétiques sont mesurées pour différentes concentrations du gène ou transcrit cible. On en déduit une courbe du C_t en fonction de la quantité d'acides nucléique et une mesure du coefficient d'efficacité E (qui doit être le plus proche possible de 2). La courbe d'étalonnage ainsi constituée permet de déduire la concentration à partir d'une mesure du C_t , les résultats sont fournis en copies/ml (Tse et Capeau.2003).

II.2Dépistage du VIH/SIDA par le test ELISA

II.2.1principe

Ce test est dis de 4^{ème} génération, combiné capable de détecter à la fois les anticorps et les antigènes d'un virus. Et pour le dépistage du VIH, il permet de déceler les traces de l'infection environ 6 semaines après la contamination (Marvel .2020).

Dans le cas du dépistage du VIH l'ELISA ne détecte pas le virus lui-même mais la réaction immunitaire qu'il induite. Toutefois, « dans le VIH, il n'y a pas d'anticorps neutralisants capables de faire barrage au virus » (Marvel.2020).

La technique ELISA « Enzyme-LinkedImmunoSorbentAssay » du français « test d'immuno-absorption enzymatique » est une technique immuno-enzymatique de détection qui permet de visualiser une réaction antigène-anticorps grâce a une réaction colorée par l'action sur un substrat d'une enzyme préalablement fixée à l'anticorp(Kacem. 2015).

Dans ce travail on a réalisé un test ELISA sandwich, qui consiste à piéger entre un anticorps de capture et l'anticorps de détection, l'antigène d'intérêt. Ces deux anticorps sont toujours spécifiques de l'antigène d'intérêt (Cyril, 2009).

II.2.2 Protocole opératoire

Une plaque de 96 puits (alvéoles) est généralement utilisée pour tester un grand nombred'échantillons simultanément, au fond de ces puits des antigènes viraux sont fixés, ici desprotéines de la capside du VIH.Pour ce dépistage, le Kit de test HIV1/HIV2 utilisé était «ADVANCED».

Préparer le nombre nécessaire de puits, y compris un puits pour les blancs (solutions contenant des concentrations connues d'anticorps), deux puits pour le contrôle négatif, deux Puits pour le contrôle VIH 1-2 positif (sont utilisés pour s'assurer de la fiabilité du matériel) et un puits pour chaque échantillon.

II.2.2.1 Procédure semi automatique

II.2.2.1.1 Préparation de la solution de lavage

On prend un volume (1v) de la solution lavage concentrée on l'ajoute a 19 volumes d'eau distillée (19v). Cette solution est valable pendant une semaine.

NB : Le travail se fait à température ambiante (18-25°C). la salle de sérologie est équipée d'un climatiseur.

II.2.2.1.2 Remplissage de la microplaque

C'est l'étape la plus importante du test. Il faut faire très attention au moment du remplissage des puits pour garantir un résultat interprétable à la fin.

Dans le premier puits, on dépose, 50µl du Blanc ;

Et dans les deux puits suivant le blanc verticalement, 50µl des deux contrôles négatifs ;

Dans les deux puits suivant les deux CN, 50µl des deux CP HIV1 ;

Dans les deux puits suivants les deux CP HIV1, 50µl des deux CP HIV2 ;

Et en fin dans les puits suivant 50µl des échantillons à tester. (**fig. 17**).

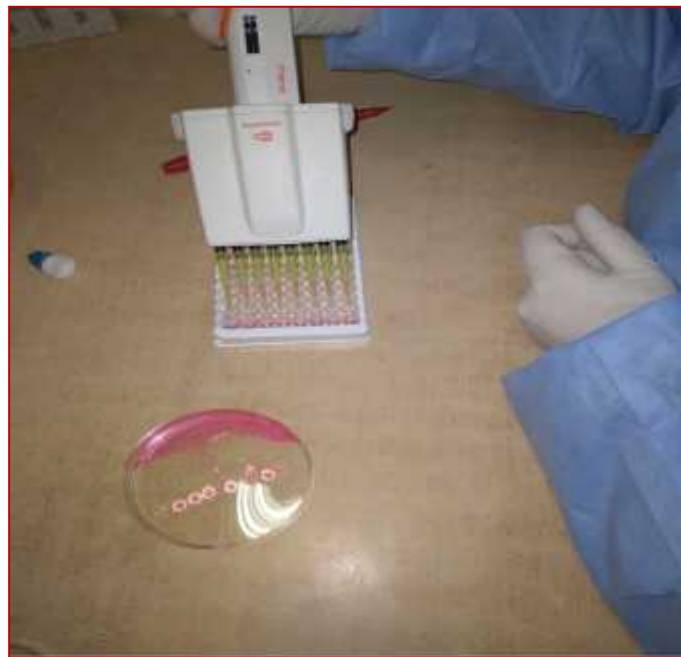


Figure.17 Le remplissage de la microplaque

II.2.2.2 Incubation

Une fois la plaque est bien remplie est vérifiée on la met dans un incubateur pendant une heure à 37°C pour que l'Ag présent dans l'échantillon puisse se fixer sur le support solide qui contient les Ac de Ag HIV-1 et les Ac de Ag HIV-2. il faut couvrir la plaque avec un emballage adhésif pour éviter l'évaporation et les débordements (**fig. 18**).



Figure.18 Incubation de la microplaque

II.2.2.3 Lavage

Les cupules sont lavées et rincées cinq (05) fois avec Wash buffer à l'aide d'un laveur automatique. On se débarrasse des Ag non fixés (**fig. 19**).

NB : lavage impropre va causer de faux résultats



Figure.19 Lavage automatique de la microplaque

II.2.2.4 Ajout de l'enzyme conjuguée

Distribuer 100µl des deux conjugué A et B dans toutes les cupules. Le conjugué doit être agité avant l'emploi. Le conjugué est un anticorps secondaire couplé à une peroxydase ; L'anticorps secondaire est un anti IgG qui va reconnaître l'anticorps primaire.

II.2.2.5 Incubation

Recouvrir la plaque avec un film adhésif neuf pour éviter les débordements et l'évaporation, puis mettre à incubation pendant 30 minutes à 37°C.

Elle se fait dans l'incubateur permettant la formation des complexes Ag VIH-Ac de se former.

II.2.2.6 Lavage

Les cupules sont lavées et rincées cinq (05) fois avec Wash buffer à l'aide d'un laveur automatique. se débarrassé des Ac non fixés.

II.2.2.7 Ajout du substrat

On rajoute 50µl du substrat colorA et 50µl du colorB dans chaque puits.

II.2.2.8 Incubation

Incuber à 37°C pendant 30mn dans l'incubateur, permettre à l'enzyme conjuguée de se lier à l'Ac II ainsi dégradé son substrat spécifique.

A la fin de l'incubation on rajoute 50µl de la solution stop (H₂SO₄) pour arrêter la réaction.

Agiter et laisser reposer pendant 10mn avant de commencer la lecture.

II.2.2.9 Interprétation des résultats

La lecture de la plaque se fait à l'aide d'un spectrophotomètre à deux longueurs d'onde, $\lambda = 450 \text{ nm}$ et 630 nm au même temps.

II.2.2.9.1 Validation de la plaque

L'intensité de la coloration est proportionnel à la quantité d'enzyme présente et donc à la concentration d'anticorps recherchées (Ac Anti-VIH). Plus la coloration est intense plus l'Ag est présent donc le conjugué s'est bien fixé à l'Ag d'intérêt lui-même fixé à l'Ac de recouvrement des puits ; mais l'examen visuel de la coloration des puits doit être soutenu par la mesure de la densité optique de chaque échantillon et la valeur Cutt-off pour une interprétation précise des résultats.

La plaque n'est validée sauf si les résultats suivants sont obtenus :

L'absorbance du substrat blanc ≤ 0.0100

L'absorbance du CN ≤ 0.100

L'absorbance du CP ≥ 0.500

II.2.2.9.2-Calcul de la moyenne des absorbances :

Une fois les contrôles validés, on calcule la moyenne des contrôles positifs et négatifs

II.2.2.9.3 Calcul de la moyenne des CP

$$PC1x = \frac{PC1 + PC2}{2}$$

$$PC2x = \frac{PC1 + PC2}{2}$$

II.2.2.9.4 Calcul de la moyenne des CN

$$NC = \frac{NC1 + NC2}{2}$$

II.2.2.9.5 Calcul de la valeur seuil

La valeur seuil est calculée par la somme de la valeur d'absorbance moyenne des CN avec un facteur constant (0.1).

$$C0 = CNx + 0.1$$

Dans ce laboratoire on assimile toujours la valeur de C0 à 0.15 d'où les résultats d'absorbances supérieures à C0 sont positifs et les résultats d'absorbances inférieures à C0 sont négatifs.

Après avoir validé la plaque, on passe à la lecture des absorbances des échantillons à dépister. Si l'absorbance des sérums est supérieure à celle de la valeur seuil, le résultat est positif : présence d'Ag HIV et si l'absorbance des sérums est inférieure à celle de la valeur seuil, le résultat est négatif: absence d'Ag HIV. Le test est d'aspect qualitatif

Il faut savoir que les Ac anti VIH deviennent détectables par les tests ELISA 3 à 6 semaines après la contamination. Dans laboratoire du CHU, si le test est positif on doit le confirmer avec d'autres tests (l'ARCHITECT et le TROD) sur le même sérum et demander un deuxième prélèvement dans un mois.

II.2.7 Confirmation par Western blot

Ce test met en évidence, et distingue les Ac dirigés vers les différentes protéines constitutives de HIV-1 et HIV-2.

Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), un résultat positif exige la présence de deux Ac dirigés contre deux glycoprotéines de l'enveloppe et d'une protéine de structure ou d'une protéine enzymatique.

II.2.8 La spectrophotométrie ARCHITECT

Chaque matin le technicien du laboratoire vérifie la maintenance de l'automate, et procède au nettoyage avec l'alcool. Puis on dépose les tubes qui contiennent les sérums à analyser dans les cassettes allant dans l'appareil, une fois les sérums sont prêts on enregistre les noms et prénoms des malades et les sérologies effectuées pour chacun, on lance les analyses pendant 3 heures de temps. A la fin on imprime directement les résultats.

II.2.9 Test rapide

- Laissez le test, l'échantillon, le tampon atteindre la température ambiante avant la réalisation du test (**fig. 20**).
- Retirez la cassette de test de la pochette scellée, puis la placez sur une surface propre et plane ;
- Tenir le compte goutte verticalement et transférer une goutte de sérum (environ 25 μ l) dans la zone de l'échantillon ;
- Ajouter 1 goutte de tampon (environ 40 μ l) et démarrer la minuterie.
- Attendez que la ou les lignes colorées apparaissent, lire les résultats à 10 minute, ne pas interpréter le résultat après 20 minute.



Figure. 20 application du test rapide

Chapitre III
Résultats et discussion

III.1 Résultats

III.1.1 Résultats statistiques du dépistage de la population d'étude des années 2014-2020

Dans notre étude, les dépistages sont issus du centre de dépistages volontaires du CHU, les patients du service des maladies infectieuses du CHU et les prélèvements systématiques externes.

Nos résultats sont obtenus que des analyses effectuées au sein du laboratoire de Microbiologie du CHU.

III.1.1.1 Le nombre de dépistages volontaire du VIH du CHU

Le nombre de dépistages des volontaires était de 260 en 2014, il n'a cessé d'augmenter de 233 à 453 entre 2015 et 2019 respectivement, pour diminuer à 253 en 2020 à cause de la pandémie Covid 19 (**Fig.21**)

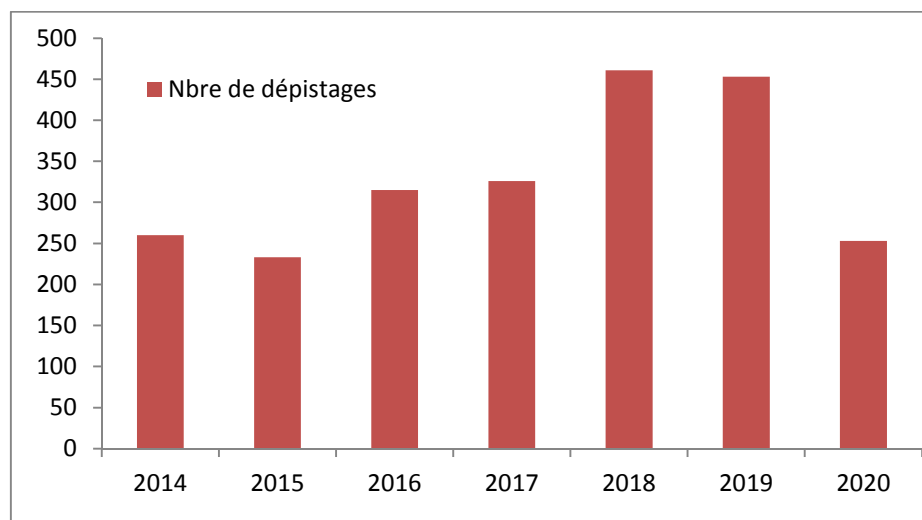


Figure. 21 Représentation graphique du nombre de des dépistages volontaires du CHU des années 2014-2020

III.1.1.2 Le nombre des dépistages systématiques du VIH du CHU de l'année 2020

Le nombre des dépistages systématiques reçu par le laboratoire de microbiologie durant cette année 2020 est de 1262, il est trois fois plus grand que les dépistages volontaires (**tableau. 4**)

III.1.1.3 Comparaison entre le nombre des dépistages volontaires et les dépistages systématiques pour l'année 2020

Le nombre de dépistages volontaires reste insuffisant pour réaliser le but de la prévention de l'infection par le VIH. D'après ces résultats le recourt aux dépistages systématiques comme l'a recommandé ONUSIDA est observé .

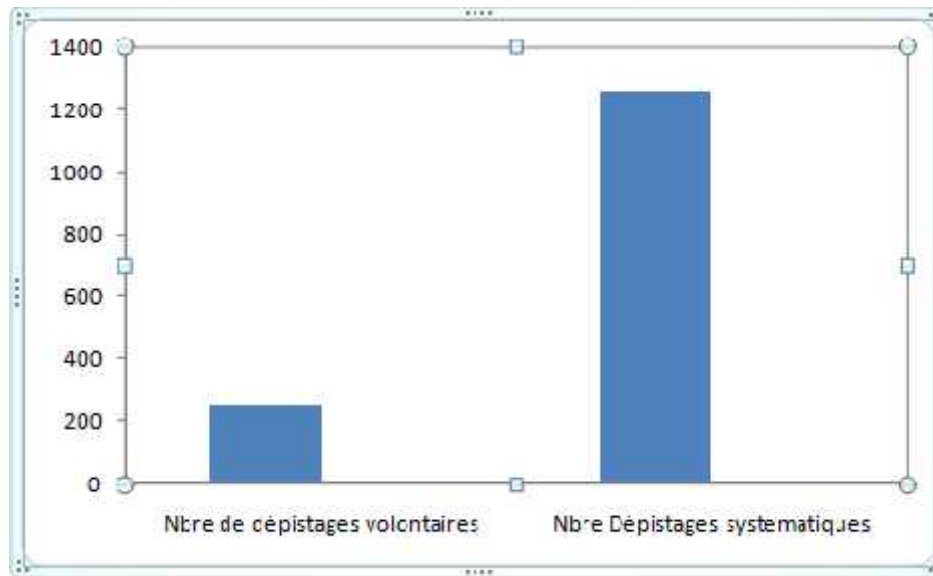


Figure. 22 Représentation graphique de la différence significative du nombre de dépistages volontaire et les dépistages systématiques, l'année 2020

III.1.2 Résultats obtenus avec la spectrophotométrie ARCHITECT

III.1.2.1 Le nombre des cas positifs à HIV chez les dépistages volontaires

L'étude rétrospective montre une présence des cas positifs à HIV chaque année chez les dépistages volontaires anonymes du CHU, leur nombre varie d'une année à une autre (06, 03, 08, 06, 08, 11, 08) pour (2014, 2015, 2016, 2017, 2018, 2019, 2020) respectivement (**Fig.23**).

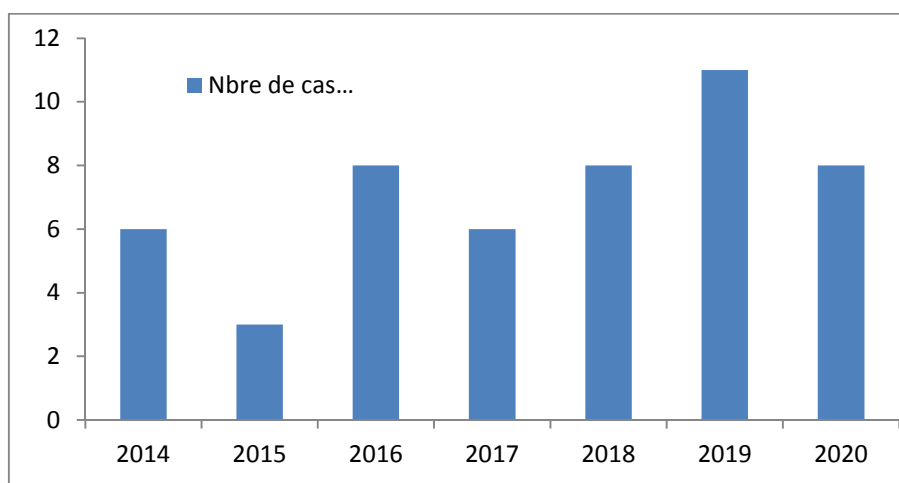


Figure. 23 Représentation graphique du nombre des nouveaux cas positifs à HIV des dépistages volontaires du CHU de TO des années 2014-2020

Les résultats obtenus avec la spectrophotométrie ARCHITECT, révèlent que la plupart des personnes sont en plain phase asymptomatique puisque leur réponse immunitaire est importante, le virus n'a pas encore envahi tout les CD4, ce qui va leur donner une très grande chance de luter contre cette infection on adaptant les ARV .par contre chez les trois personnes présentant des taux de réponse immune faible de 32.32, 5.02 et 2.17 soit ils sont en phase de primo-infection, les Ac sont liés aux Ag et soit la phase SIDA ou le système immunitaire est détruit par le virus.mais malheureusement on peut pas suivre ces personnes parceque les prélèvements sont anonymes pour le laboratoire (**tableau. 5**).

Tableau. 5 Résultats de la mesure de la réponse immunitaire des dépistages volontaires du CHU des années 2014-2020

année taux d'immunité	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020
01	555.98	498.12	1089.46	241.58	873.80	5.02	1266.67
02	526.06	835.13	676.51	795.28	665.89	471.04	719.47
03	834.74	639.43		659.55	534.67	102.91	684.16
04	628.84			1270	771.29	666.89	595.98
05	667.17				638.77	456.83	957.07
06	767.42				2.17	646.85	700
07					615.22	849.50	320.52
08						56.16	915.47
09						32.32	
10						124.04	
11						303	

Pour bien illustrer cette réponse immunitaire on a procédé au calcul des moyennes. Ceci a montré que les moyennes sont presque similaires pour toutes les années, sauf en 2019 la moyenne a diminué à cause de la personne qui a le taux de 5. D'après ces résultats, les dépistés ont beaucoup de chance d'échapper à la phase SIDA et à la mort puisque leur système immunitaire est encore fonctionnel à condition de revenir pour les soins ARV (**figure. 24**)

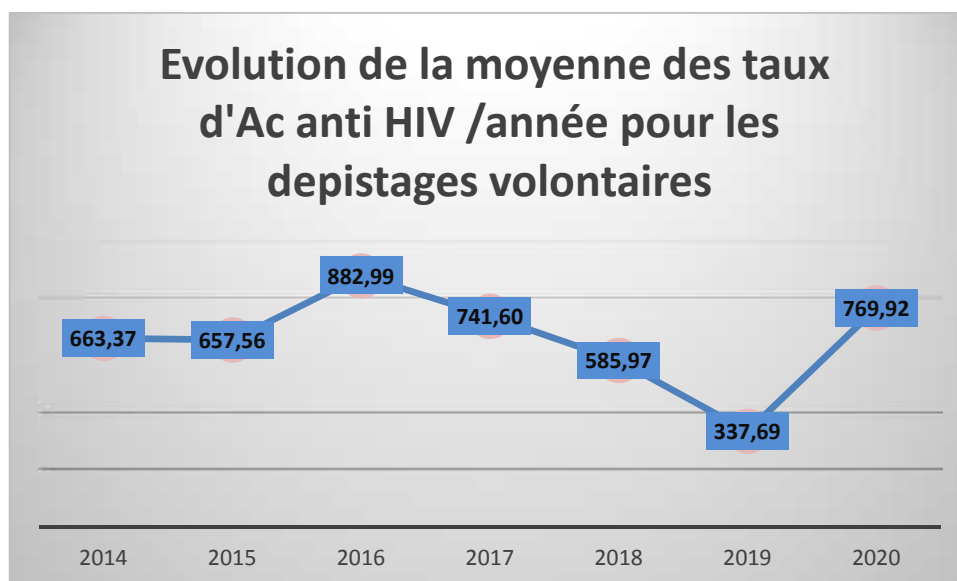


Figure. 24 Représentation graphique des moyennes des taux de réponses immunitaires des dépistages volontaires des années 2014-2020

III.1.3 Résultats obtenus par ELISA

La technique ELISA a été introduite au laboratoire de Microbiologie du CHU au mois de juillet 2020. Depuis, c'est la technique ELISA qui est utilisée pour la recherche d'Ac anti VIH, tandis que la PCR est réservée pour le contrôle de la charge virale des malades atteints du virus HIV au CHU.

Lecas positif retrouvé avec l'ELISA doit être avec la spectrophotométrie ARCHITECT (appareil performant) et un test rapide (TROD), et demander un deuxième prélèvement.

On a retrouvé 08 cas faiblement positifs avec ELISA des dépistages systématiques reçus, 07 d'entre eux sont confirmés négatifs avec la spectrophotométrie ARCHITECT et 01 seul positif avec un taux de 5UI, sachant que le seuil de positivité de cet appareil est de 1UI, mais qui s'est avéré négatif avec le test rapide TROD. Ces résultats montrent une discordance avec les trois techniques, un deuxième prélèvement est recommandé pour chacun dans un mois (**Tableau. 6**).

Tableau.6 Résultats des dépistages systématiques du laboratoire de microbiologie du CHU de juillet 2020 à décembre 2020

Technique	ELISA	Spectrophotométrie ARCHITECT	Test rapide
Positifs à VIH	08	01	00

Deux cas positifs à HIV de la maison d'arrêt de TO obtenus avec l'ELISA durant le mois de décembre 2020, sont confirmés avec un test TROD et la Spectrophotométrie ARCHITECT. Les résultats obtenus avec les différentes techniques sont similaires dans les deux patients sont positifs à HIV (**tableau. 7**)

Tableau.7 Comparaison des résultats positifs obtenus avec les trois techniques

Patient Technique	Patient1	Patient2
ELISA	Positif	positif
Spectrophotométrie ARCHITECT	918.25	1083.47
Test TROD	Positif	positif

III.1.4 Résultats obtenus avec la PCR en temps réel

Dans les lignes directrices actualisées de l'OMS de 2016, il est recommandé d'effectuer un suivi systématique de la charge virale 6 mois et 12 mois après l'initiation du traitement antirétroviral, puis tous les 12 mois si l'état de la personne est stable sous traitement antirétroviral.

Pendant notre travail au laboratoire de microbiologie la PCR est réservée pour la mesure de la charge virale des patients du service des maladies infectieuses. L'analyse nous a permis d'avoir des résultats suivants :

Comme il y a eu des ruptures de stock de réactifs pour la PCR, les patients ont dû avoir recours chez les laboratoires d'analyses privées, ce qui a rendu le suivi de la charge virale difficile et incomplet pour avoir un grand nombre de patients suivis.

Malgré le peu de patients observés avec des CV successives, On a pu récolter des résultats intéressants : (**tableau. 8**).

On a constaté une baisse progressive de la CV jusqu'à atteindre une charge non détectable, ce qui signifie absence de réplication du virus HIV, cette CV est inférieure à 20 copies/ml c'est la valeur seuil du COBAS utilisé au laboratoire. La période de traitement pour arriver à la CND diffère d'un patient à l'autre.

Une diminution de la CV importante est enregistrée juste au début du traitement, d'après l'étude rétrospective on observe chez le patient 1 une charge de 708000 copies/ml en juin qui diminuera jusqu'à 808 copies/ml au bout de 2 mois, et continuera à descendre jusqu'à 648 copies/ml après trois mois de traitement jusqu'à devenir indétectable au bout du trimestre suivant. Ce qui est très satisfaisant, dans le patient répond très bien au ARV administrés (**tableau. 8**).

Une légère augmentation de la CV est notée chez les patients 3(367copies/ml à 583copies/ml) et le 7 (125copies/ml à 304copies/ml), elle peut être due à, la rupture du traitement, prise de médicaments associés qui vont empêcher l'absorption des ARV ou une infection en parallèle. Le patient 4 (de 29100copies/ml à 70000000copies/ml) présente une augmentation très importante de la CV ce qui peut être expliqué comme les patients 3 et 7 mais aussi par une résistance aux ARV administrés car il est au début du traitement, mais une diminution significative de cette CV est obtenue au bout du premier trimestre du traitement, elle est arrivée jusqu'à 133copies/ml, le même résultat est obtenu avec le patient 1 qui a démarré avec une CV de 708000copies/ml qui fini avec une CND au bout du quatrième trimestre, ce qui est un exploit pour l'utilisation des ARV contre l'infection VIH/SIDA (**Tableau. 8**).

Les résultats de l'analyse en composante principale réalisée pour les données collectées des patients, avec une inertie totale de 75.46% (45.93% pour l'axe 1 et 29.93% pour l'axe 2). La projection des individus sur le plan factoriel (figure. 23) permet de distinguer un ensemble de patients 2.5 et 6 qui représentent les malades traités et qui sont devenus séronégatifs avec une CND au bout du troisième trimestre de traitement. Le patient 1, 3, 4 et 7 s'individualisent dans la projection sur le plan factoriel et confirment une évolution différente, déjà discutée, des malades vis-à-vis du traitement.

Tableau. 8 charges virales des patients positifs à VIH du CHU tout les trois mois 2019-2020

numéro	CV1	CV2	CV3	CV4
Patient 1	708000	808	648	CND
Patient 2	427	CND	CND	CND
Patient 3	367	583	355	
Patient 4	29100	70000000	133	CND
Patient 5	774.47	272	CND	CND
Patient 6	366	CND	CND	CND
Patient 7	515	125	304	244

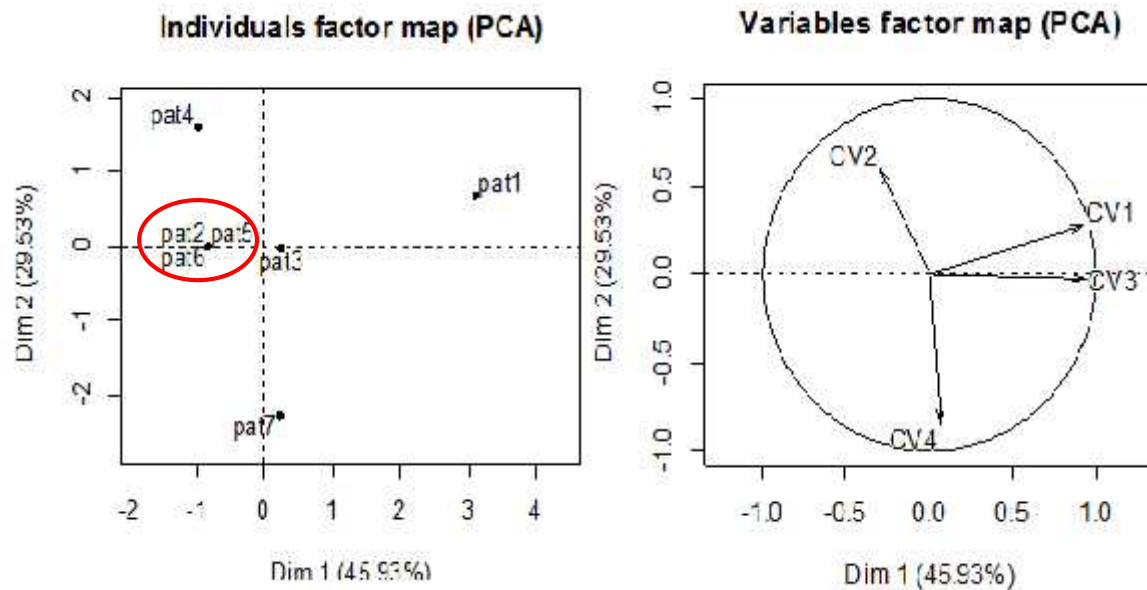


Figure. 25 Analyse en composante principale des charges virales et des patients.

D'après analyse statistique (ACP) la plus part des patients ne présente aucune charge virale dans le quatrième trimestre(CV4) du traitement sauf pour le 7^{eme} malade qu'on rencontre avec 244 copies/ml. Bien que le patient 1 présente une CV importante au début, mais on le retrouve pas à CV4. A CV2 le malade 4 présente une forte CV surement que le patient n'a pas pris son traitement ou résistant au premier traitement. Mais spectaculairement sa CV a diminué significativement à CV3 jusqu'à disparaître à CV4.

Les patients 11 et 12 présentent une CV qui diminue lentement, et le virus persiste la réplication même après une année de traitement. On a aussi remarqué que le patient peut garder la CND très longtemps et même durant tout le reste de sa vie à condition qu'il respecte la prise de son traitement (comme les malades 9 et 10) (**tableau. 9**).

Tableau. 9 charges virales des patients positifs à VIH du CHU en intervalle d'une année

Patient 8	72300	CND
Patient 9	CND	CND
Patient 10	CND	CND
Patient 11	593	200
Paient 12	304	244

III.1.4 Résultats obtenus avec le test rapide TROD

Plusieurs tests rapide (TROD) ont été effectués durant notre travail au laboratoire pour la confirmation des cas positifs à VIH obtenus avec d'autres techniques. Le temps d'apparition de bandes de positivité varie d'une personne à l'autre.

Deux tests rapides pour confirmation de deux résultats positifs à HIV avec la spectrophotométrie ARCHITECT, la bande de confirmation des deux sérums est apparue au bout de quelques secondes, voire leur taux de réponses immunitaires élevées (**fig.25**).



Figure. 26 tests rapides TROD positif à HIV

III.2 Discussions

L'objectif de notre travail c'est mettre en évidence l'efficacité des techniques de biologie moléculaire PCR et d'immunoenzymatique ELISA dans le dépistage du VIH-SIDA et expliquer qu'une prise en charge médicale des sujets atteints du VIH va leur offrir une possibilité d'une vie normale, quelque soit le stade de la maladie.

Le dépistage volontaire se fait à la demande du patient généralement après des campagnes de sensibilisation ou contact avec la maladie, et comme son nombre est insuffisant pour une prévention efficace de l'infection à VIH, pour contourner les difficultés de ce dépistage et renforcer l'efficacité de la prévention anti-VIH, il a été initialement mis en place sous forme de dépistage systématique (qui présente un très grand nombre 4 fois plus le nombre des dépistages volontaires à la wilaya de TO en 2020) du VIH par les professionnels de sante puisque les traitements ARV sont disponibles et efficace.

Les tests de détection du VIH sont deux types :

Test indirect, ou sérologique, visant à détecter dans le sang les Ac produit par le système immunitaire contre les Ag du virus ELISA et spectrophotométrie ARCHITECT.

Test direct, reposant sur la mise en évidence du virus (détection d'un composant du virus, comme l'antigène p24 (ELISA), ou de son génome par PCR).

Pour affirmer qu'un sujet est séropositif vis-à-vis du VIH, deux test sérologiques sont nécessaires dès fois trois. Le premier test doit avoir une sensibilité élevée, afin de ne pas méconnaître la présence d'Ac dirigés contre le VIH et le deuxième doit avoir une forte spécificité, afin de pouvoir confirmer que les Ac détectés sont bien des Ac dirigés vers le VIH (OMS-ONUSIDA. 2007).

Dans le laboratoire de microbiologie du CHU un résultat n'est rendu positif sauf si le sérum réagit avec les trois tests ELISA, spectrophotométrie ARCHITECT et TROD, et toujours un deuxième prélèvement est demandé un mois après.

Un sérum donnant un résultat discordant entre les trois tests est considéré comme indéterminé, danc la présence ou l'absence des Ac –anti-VIH ne peut pas être déterminée, un autre prélèvement est recommandé, crainte : d'une séroconversion (personne a été en contact de la maladie elle doit attendre 3 mois pour un contrôle, c'est la notion de période de séroconversion) (OMS-ONUSIDA .2007).

La recherche de l'Ag p24 fait appel à des tests ELISA « sandwich » dits tests combinés, capable de détecter l'Ag p24 en même temps que les Ac anti-VIH-1 et anti- VIH-2.Car pour diagnostiquer, une infection à VIH au moment de la phase aigue de primo-

infection : en effet, à cette phase, l'Ag p24 peut être présent dans le sang en quantité élevée alors que les Ac anti-VIH ne sont pas encore apparus, et aussi en phase SIDA déclaré, l'organisme à nouveau n'arrive pas à neutraliser le virus en raison de sa multiplication importante alors la recherche de l'antigène p24 est encore positive. Cela nous permet de comprendre que la négativité d'un résultat en ELISA (recherche Ac anti-VIH) peut être au stade SIDA de l'infection (Biron et al, 2000).

Les résultats qui sont faiblement positifs à l'ELISA et qui sont négatifs à l'ARCHITECT s'expliquent par la présence des protéines dans le plasma sanguin qui ressemblent à la p24 du VIH et qui sont à l'origine des réactions antigènes-anticorps non spécifiques.

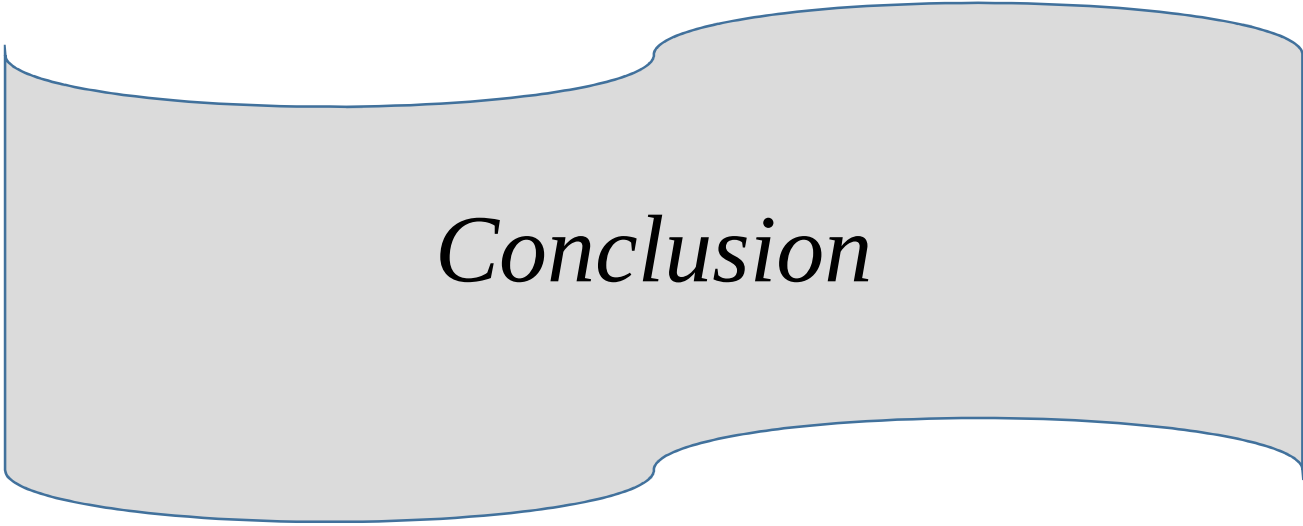
La charge virale du VIH correspond à la quantité d'ARN viral c'est le seul paramètre qui nous permet de diagnostiquer l'infection chez les enfants exposés avant 18 mois et dans le cas de la primo infection avant que les Ac ne soient détectables.

Le suivi de la charge virale du VIH est important pour garantir la réussite du traitement antirétroviral. Il est considéré comme l'approche privilégiée pour le diagnostic et la confirmation de l'échec d'un traitement antirétroviral (WHO.2016).

Ce qu'on constate de la représentation graphique, que la charge virale des patients du CHU diminue avec le temps jusqu'à devenir indétectable pour la plus part. Selon l'OMS la diminution de la CV va apparaître dès les deux premières semaines du traitement, est inférieur à 400 au bout du troisième mois et indétectable au bout du sixième mois.

Malgré la CND du virus VIH, les Ac produits par la réponse immunitaire dès les 21 jours après la contamination persisteront toute la vie du patient.

(goffard.2018) du centre de références Sida d'Erasme valide scientifiquement le fait qu'une personne séropositive ayant une CND grâce à son traitement ARV ne transmet pas le VIH.



Conclusion

Maintenir l'idée que la découverte de la séropositivité est synonyme de condamnation à mort peut avoir pour conséquence de décourager les personnes de se faire dépister et ainsi retarder leur prise en charge médicale.

Le nombre des dépistages volontaires du CHU de TO n'est pas considérable pour la prévention de cette infection, sachant que cette année les seuls cas positifs sont obtenus des dépistages volontaires anonymes. Avec le recourt aux dépistages systématiques on pourra contrôler la propagation de cette infection à VIH.

Grace à la PCR les patient à VIH peuvent bien suivre l'évolution de leur maladie, et comme les traitements sont disponibles et efficaces, ils peuvent vivre normalement et récupéreront leur système immunitaire.

Le suivie de la charge virale est important pour garantir la réussite du traitement antirétroviral. Il est considéré comme l'approche privilégiée pour le diagnostic et la confirmation de l'efficacité d'un traitement antirétroviral, et aussi d'avoir les connaissances nécessaires et d'être motivés. Pour réussir une prise en charge des malades du VIH il faut suivre leur charge virale tout les trois mois (Yazdanpanah. 2016).

Dans les lignes directrices actualisées de l'OMS de 2016, il est recommandé d'effectuer un suivi systématique de la charge virale 6 mois et 12 mois après l'initiation du traitement antirétroviral, puis tous les 12 mois si l'état de la personne est stable sous traitement antirétroviral.

Aujourd'hui, le traitement de l'infection à VIH s'est considérablement simplifié avec la disponibilité de plusieurs associations fixes comprenant 3 ARV (la trithérapie). Cette thérapie ne guérit pas l'infection, mais empêche la réplication du virus dans l'organisme et permet au système immunitaire de se renforcer. En revanche, lorsque le traitement est démarré suffisamment tôt et que le taux de CD4 est restauré, l'espérance de vie semble équivalente à celle de la population normale. (Avettand-Fenoel, *al.* 2016).

Malgré les traitements, 35% des personnes traitées à l'heure actuelle gardent un taux de CD4 inférieur à 500/mm³, car il faut des années pour qu'une personne diagnostiquée à un stade avancé parvienne à ce taux. Dans ce cas, la morbidité et la mortalité associées à l'infection sont supérieures à celles observées chez des personnes dont l'infection est bien contrôlée (ONUSIDA .2017).

Si toutes les personnes infectées par le VIH étaient traitées, on pourrait parvenir à éradiquer l'épidémie à l'échelle globale. Malheureusement, nous ne sommes pas dans un monde idéal. En effet, très peu de personnes infectées par VIH ont accès aux traitements, notamment en Afrique et en Asie qui concentrent 90% des personnes infectées. A l'échelle individuelle, le vaccin préventif et/ou thérapeutique doit rester une priorité dans la lutte contre le VIH-1. Les candidats vaccins testés à ce jour, bien qu'ils induisent une réponse immunitaire, ne permettent pas de protéger contre le VIH. La difficulté réside donc dans le fait que ce vaccin va devoir faire mieux que notre propre immunité(ONUSIDA .2017).

Nous savons aujourd'hui fabriquer en laboratoire des anticorps capables de neutraliser la quasi-totalité des souches virales du VIH. Il serait important de savoir comment faire en sorte que les patients puissent produire ces anticorps eux-mêmes, que ce soit en éduquant leurs lymphocytes B ou grâce à des approches de thérapie génique ou cellulaire(ONUSIDA. 2017).

Toutefois, les ARV actuels présentent des effets secondaires. À cet égard, la recherche se poursuit pour de nouveaux traitements avec moins de toxicité. Le TAF en est un exemple mais qui n'est pas encore commercialiser.

Il faut que l'état fait un effort pour l'approvisionnement des laboratoires spécialisés, en kits et réactifs pour les techniques ELISA et PCR, vu leur prix excessif le CHU se plain souvent des ruptures de stock ce qui pousse les malades à faire leurs analyses chez les laboratoires privés mais qui reviennent chers pour certains.

L'intégration de la proposition systématique du dépistage VIH au côté des hépatites B et C, de la syphilis, de la toxoplasmose et de la rubéole dès la première consultation prénatale. Assurer l'accès aux options de l'association, de mesures de prévention, parmi lesquelles la prophylaxie pré-exposition(ONUSIDA. 2017).

Un vaccin contre le SIDA tout le monde en rêve,

Voici les engagements du ministère de la sante algérien :

La riposte au VIH/sida s'est, aussi, parallèlement inscrite dans le cadre des engagements internationaux ratifiés par l'Algérie notamment la vision d'ONUSIDA 90-90-90 et la Déclaration d'Algérie sur l'accélération du dépistage du VIH au Moyen-Orient et en Afrique du Nord qui visent, à terme, l'élimination de l'épidémie de sida d'ici 2030.

ENGAGEMENT 1. Garantir l'accès au traitement aux 30 millions de personnes vivant avec le VIH grâce à l'atteinte des objectifs 90–90–90 d'ici 2020

ENGAGEMENT 2. Éliminer les nouvelles infections à VIH chez les enfants d'ici 2020 et garantir l'accès au traitement du VIH à 1,6 millions d'enfants d'ici 2018

ENGAGEMENT 3. Assurer l'accès aux options de l'association de mesures de prévention, parmi lesquelles la prophylaxie préexposition, la circoncision masculine volontaire médicale, la réduction des risques et les préservatifs, à au moins 90 % des personnes d'ici 2020, en particulier les jeunes femmes et les adolescentes dans les pays à forte prévalence et les populations clés, c'est-à-dire les homosexuels et les autres hommes ayant des rapports sexuels avec des hommes, les personnes transgenres, les professionnels du sexe et leurs clients, les personnes qui s'injectent des drogues et les prisonniers

ENGAGEMENT 4. Éliminer les inégalités entre les sexes et mettre fin à toutes les formes de violence et de discrimination envers les femmes et les filles, les personnes vivant avec le VIH et les populations clés d'ici 2020

ENGAGEMENT 5. S'assurer que 90 % des jeunes possèdent les compétences, les connaissances et la capacité de se protéger du VIH et disposent d'un accès à des services de santé sexuelle et reproductive d'ici 2020 afin de réduire à moins de 100 000 personnes par an le nombre de nouvelles infections à VIH parmi les adolescentes et les jeunes femmes

ENGAGEMENT 6. S'assurer que 75 % des personnes vivant avec le VIH, affectés par le VIH ou à risque bénéficient de la protection sociale incluant le VIH d'ici 2020

ENGAGEMENT 7. Garantir la gestion par la communauté d'au moins 30 % des services fournis d'ici 2020

ENGAGEMENT 8. Garantir l'augmentation des investissements liés au VIH à hauteur de US\$ 26 milliards d'ici 2020, dont un quart pour la prévention du VIH et 6 % pour les acteurs sociaux

ENGAGEMENT 9. Responsabiliser les personnes vivant avec le VIH, à risque ou bien affectées par le VIH afin qu'elles connaissent leurs droits, aient accès à la justice et à des services juridiques afin de prévenir et lutter contre les violations des droits de l'homme

ENGAGEMENT 10. S'engager à sortir le sida de l'isolement par le biais de systèmes centrés sur les populations afin d'améliorer la couverture de santé universelle, notamment le traitement pour la tuberculose, le cancer du col de l'utérus et les hépatites B et C

Le traitement de la PI VIH est à vie.

Traiter une PI VIH aide à une meilleure gestion de la santé publique en diminuant le risque de transmission virale et en luttant contre les épidémies du VIH.

ENGAGEMENT 10. S'engager à sortir le sida de l'isolement par le biais de systèmes centrés sur les populations afin d'améliorer la couverture de santé universelle, notamment le traitement pour la tuberculose, le cancer du col de l'utérus et les hépatites B et C

Annexes

Tableau.4 Comparaison entre le nombre des dépistages volontaires et les dépistages systématiques pour l'année 2020 au laboratoire de microbiologie du CHU.

année	Nbre de dépistages volontaires	Nbre de Dépistages systématiques
2020	253	1262

Tableau.10 Nombre des dépistages volontaires du CHU de TO

Années	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020
Nbre de dépistages	260	233	315	326	461	453	253

Tableau. 11 Nombre des cas positifs à VIH des dépistages volontaires du CHU de TO des années 2014-2020

Années	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020
Nbre de cas positif	06	03	08	06	08	11	08

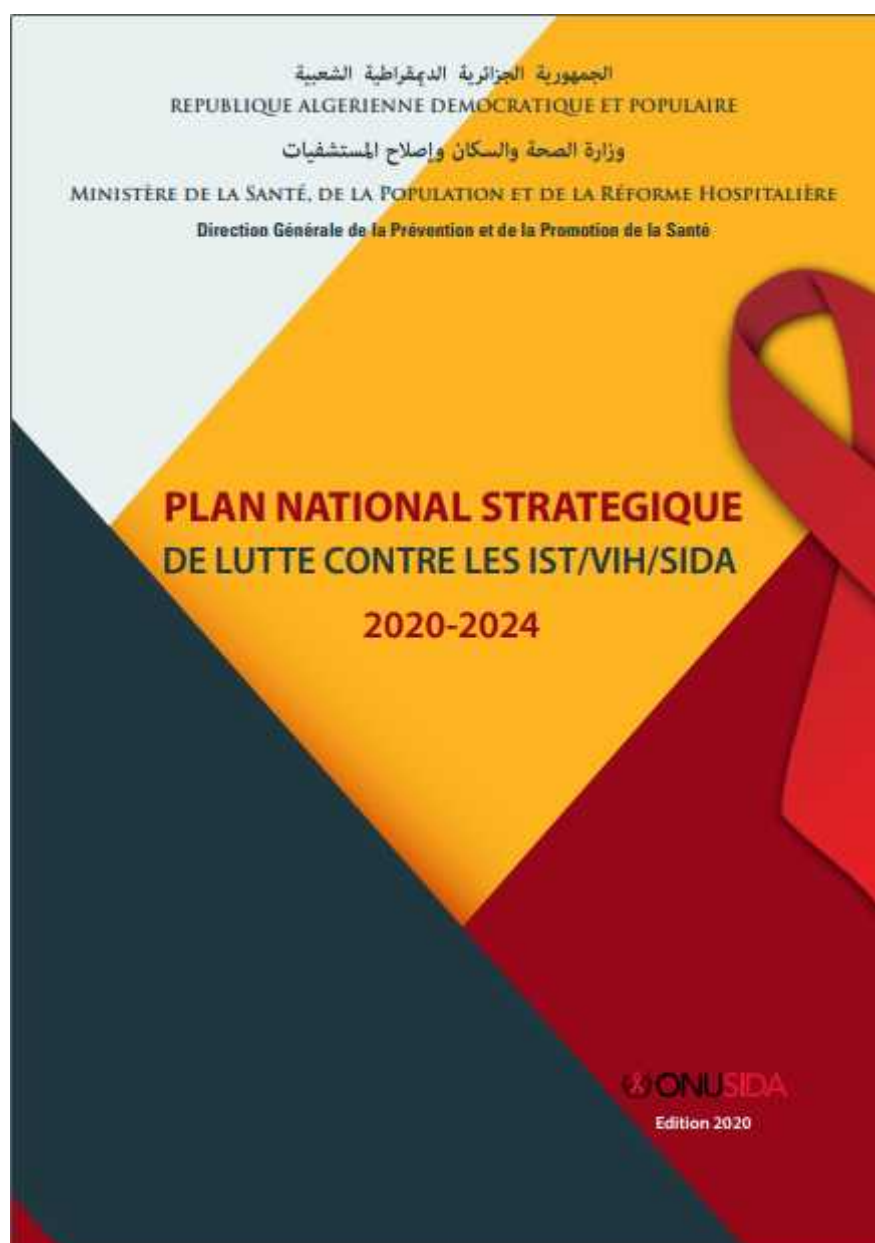
Tableau. 12 Le nombre de tests effectués pour le service des MI du CHU de TO pour l'année 2019

année	Nombre de tests total VIH	Nbre de tests VIH demandés par le service des MI
2019	5856	732

Annexes

Tableau 13 : Charge virale de quelques patients suivis au service des MI du CHU de TO : 2019-2020

Les patients	CV1	CV2	CV3	CV4
01-	72300 09-19	CND 10-20		
02	708000 06-19	808 08-19	648 11/2019	CND 02-2020
03	427 02-2020	CND 07-2020		
04	376 03-2020	583 04-2020	355 09-2020	
05	CND 04-19	CND 06-19	CND 10-2020	
06	CND 03/2019	CND 06-2020		
07	29100 06-2019	70000000 07-2019	133 09/19	
08	774.47 28-04-2020	272+ 06-2020		
09	1930000 01/2020			
10	366 02-2020	CND 07-2020		
11	787 09/2020			
12	593 04-2019	200 02-2020		
13	515 03-2019	125 05-2019	304 08-2019	244 08-2020 281 08-2020
14	674 04/2020			
15	CND	CND	CND	



[illegible]

Date: _____

Le manipulateur:

Annexes

G, 2.943, 0.056, 0.058, 0.057, 0.063, 0.064, 0.064, 0.067, 0.065, 0.066, 3.508, 0.062,
H, 0.379, 0.057, 0.054, 0.060, 0.088, 0.061, 0.058, 0.067, 0.058, 0.073, 0.089, 0.063,

630 ,, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12,

A, 0.037, 0.037, 0.038, 0.037, 0.038, 0.038, 0.038, 0.037, 0.040, 0.039, 0.038, 0.148,
B, 0.036, 0.037, 0.038, 0.038, 0.039, 0.041, 0.039, 0.039, 0.042, 0.042, 0.042, 0.040,
C, 0.037, 0.038, 0.039, 0.040, 0.040, 0.041, 0.041, 0.041, 0.044, 0.044, 0.045, 0.039,
D, 0.039, 0.036, 0.036, 0.039, 0.038, 0.042, 0.040, 0.041, 0.042, 0.043, 0.043, 0.039,
E, 0.040, 0.038, 0.040, 0.038, 0.041, 0.043, 0.041, 0.041, 0.041, 0.042, 0.045, 0.038,
F, 0.045, 0.040, 0.039, 0.042, 0.048, 0.050, 0.044, 0.044, 0.044, 0.048, 0.049, 0.043,
G, 0.072, 0.040, 0.042, 0.040, 0.048, 0.047, 0.049, 0.050, 0.051, 0.051, 0.127, 0.043,
H, 0.037, 0.038, 0.038, 0.039, 0.042, 0.043, 0.040, 0.050, 0.043, 0.046, 0.050, 0.041,

Delta ,, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12,

A, 0.017, 0.015, 0.017, 0.016, 0.017, 0.018, 0.017, 0.014, 0.021, 0.026, 0.019, 3.218,
B, 0.017, 0.020, 0.343, 0.016, 0.016, 0.638, 0.018, 0.017, 0.033, 0.043, 0.019, 0.018,
C, 0.017, 0.066, 0.049, 0.431, 0.015, 0.021, 0.015, 0.017, 0.029, 0.016, 0.020, 0.017,
D, 1.836, 0.017, 0.015, 0.016, 0.020, 0.019, 0.017, 0.018, 0.016, 0.016, 0.019, 0.018,
E, 1.728, 0.017, 0.702, 0.020, 0.021, 0.019, 0.016, 0.018, 0.016, 0.017, 0.025, 0.022,
F, 3.427, 0.017, 0.017, 0.008, 1.552, 0.019, 0.016, 0.016, 0.013, 0.021, 0.020, 0.022,
G, 2.871, 0.016, 0.016, 0.017, 0.015, 0.017, 0.015, 0.017, 0.014, 0.015, 3.381, 0.019,
H, 0.342, 0.019, 0.016, 0.021, 0.046, 0.018, 0.018, 0.017, 0.015, 0.027, 0.039, 0.022,

Blanked,, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12,

A, 0.000, -0.00, 0.000, -0.00, 0.000, 0.001, 0.000, -0.00, 0.004, 0.009, 0.002, 3.201,
B, 0.000, 0.003, 0.326, -0.00, -0.00, 0.621, 0.001, 0.000, 0.016, 0.026, 0.002, 0.001,
C, 0.000, 0.049, 0.032, 0.414, -0.00, 0.004, -0.00, 0.000, 0.012, -0.00, 0.003, 0.000,
D, 1.819, 0.000, -0.00, -0.00, 0.003, 0.002, 0.000, 0.001, -0.00, -0.00, 0.002, 0.001,
E, 1.711, 0.000, 0.685, 0.003, 0.004, 0.002, -0.00, 0.001, -0.00, 0.000, 0.008, 0.005,
F, 3.410, 0.000, 0.000, -0.01, 1.535, 0.002, -0.00, -0.00, -0.00, 0.004, 0.003, 0.005,
G, 2.854, -0.00, -0.00, 0.000, -0.00, 0.000, -0.00, 0.000, -0.00, -0.00, 3.364, 0.002,
H, 0.325, 0.002, -0.00, 0.004, 0.029, 0.001, 0.001, 0.000, -0.00, 0.010, 0.022, 0.005,



CAT. NO. ITP22005
01.05.03.1006-190202

HIV

Diagnostic Kit for Antibody to Human Immunodeficiency Virus (ELISA)

For PROFESSIONAL Use

This package insert must be read carefully prior to use. Package insert instructions must be carefully followed. Reliability of assay results cannot be guaranteed if there are any deviations from the instructions in this package insert.

INTENDED USE

The ADVANCED® Diagnostic Kit for Antibody to Human Immunodeficiency Virus is an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the qualitative determination of antibodies to human immunodeficiency virus (HIV) type 1 and/or 2 (HIV1/2) in human serum or plasma. It is intended for the screening of blood donors and for aid in the diagnosis of clinical conditions related to infection with HIV-1 and/or HIV-2.

SUMMARY

Acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) was described for the first time in 1981 and is characterized by a series of opportunistic infections with a fatal disease outcome. The causative agent of AIDS was identified in 1983 as previously unknown retrovirus, which today is termed the Human Immunodeficiency Virus type 1 (HIV-1) (originally LAV, HTLV-III). In 1986, a further representative of the humanopathogenic immunodeficiency viruses was isolated (HIV-2). HIV is transmitted by sexual intercourse, inadequately disinfected medical instruments (e.g. injection needles) and transmission from mother to child at birth or during breast feeding are other ways in which the HIV virus can spread in the population.

As a consequence, test methods for the detection of HIV-specific antibodies were introduced in blood banks and the blood-processing industries in 1985. As a screening method, the ELISA (enzyme-linked immuno-sorbent assay) test has become well established. For

FULLY AUTOMATED MICROPLATE PROCESSORS

Validated protocols for a range of automated instruments are available, contact your representative for details. For instrumentation without established validated protocols, the following guidelines are recommended.

1. For the first incubation, incubation times between 55 and 65 minutes (or 60 ± 5 minutes) may be programmed.
2. For the 30 minute incubations, incubation times between 28 and 32 minutes (or 30 ± 2 minutes) may be programmed.

RESULTS

Results of an assay are valid if the following criteria are accomplished:

1. A run is valid if:
 - 1) Substrate blank
 - The absorbance value must be less than or equal ($\leq$) 0.100
 - 2) Absorbance of the negative control after subtracting blank. (NC)
 - Each NC must be less than or equal ($\leq$) 0.100
 - Eliminate any NC greater than ($>$) 0.100.
 - If two values are out of this range, the run is invalid and the assay should be repeated.
 - 3) Absorbance of the positive control after subtracting blank. (PC)
 - Mean of PC must be greater than or equal ($\geq$) 0.500
 - If it is lower, the run is invalid and the assay should be repeated.
2. Calculation of Control
 - Subtract Blank Mean OD from all samples and controls OD values
 - 1) Negative Control Mean absorbance (NCx)
 - $NCx = (NC1 + NC2) / 2$
 - Eliminate any NC greater than ($>$) 0.100
 - 2) HIV-1 Positive Control Mean absorbance (PC1x):
 - $PC1x = (PC11 + PC12) / 2$
 - HIV-2 Positive Control Mean absorbance (PC2x):
 - $PC2x = (PC21 + PC22) / 2$
3. Calculation of the Cut-off Value
 - Cut-off value:
 - Cut-off = $0.1 + NCx$ (Any NCx less than ($<$) 0.05 should be regarded as 0.05.)

Example

this package insert.

INTENDED USE

The ADVANCED® Diagnostic Kit for Antibody to Human Immunodeficiency Virus is an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the qualitative determination of antibodies to human immunodeficiency virus (HIV) type 1 and/or 2 (HIV1/2) in human serum or plasma. It is intended for the screening of blood donors and for aid in the diagnosis of clinical conditions related to infection with HIV-1 and/or HIV-2.

SUMMARY

Acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) was described for the first time in 1981 and is characterized by a series of opportunistic infections with a fatal disease outcome. The causative agent of AIDS was identified in 1983 as previously unknown retrovirus, which today is termed the Human Immunodeficiency Virus type 1 (HIV-1) (originally LAV, HTLV-III). In 1986, a further representative of the humanopathogenic immunodeficiency viruses was isolated (HIV-2). HIV is transmitted by sexual intercourse, inadequately disinfected medical instruments (e.g. injection needles) and transmission from mother to child at birth or during breast feeding are other ways in which the HIV virus can spread in the population.

As a consequence, test methods for the detection of HIV-specific antibodies were introduced in blood banks and the blood-processing industries in 1985. As a screening method, the ELISA (enzyme-linked immuno-sorbent assay) test has become well established. For confirmation of positive ELISA test results, an HIV-specific western blot is performed. With the identification of new virus types (HIV-2 and HIV variant (HIV-O), commercially available ELISA screening tests have been continuously optimized and improved in terms of their sensitivity.

However, an ELISA test does not provide 100% security in the diagnostic of HIV. Therefore, a positive ELISA antibody test must be confirmed using another specific method, such as western blot.

A negative ELISA result does not, however, entirely rule out the possibility of the presence of HIV-1/2. In spite of this, the ELISA test is currently the test serological method for identifying with a large degree of certainty blood donated by HIV-infected individuals. Through routine screening of donor blood using an ELISA test, it has become possible to eliminate the transmission of HIV through blood and blood products to a very large degree.

PRINCIPLE OF THE PROCEDURE

The ADVANCED® Diagnostic Kit for Antibody to Human Immunodeficiency Virus is an ELISA based, double antigens "sandwich" immunoassay, which employs a variety of recombinant HIV antigens: some immobilized at the bottom of the microtiter wells, and others coupled with horseradish peroxidase (HRP) as the conjugate solution. During the assay, the existing HIV antibodies in sample will react with those antigens to form an antigen-antibody-antigen-HRP immuno-complex. After the unbound material is washed off during the assay procedure, substrate is applied to indicate the test result. The appearance of blue color in microtiter wells indicates HIV reactive result. The absence of the color indicates non-reactive result in the specimen.

CONTENTS OF THE KIT

1	Antigen Coated Microtiter well Plate	1plate (96T)
	One plate of 96 wells coated with recombinant HIV antigen	
2	Enzyme Conjugate	1×14ml
	One bottle containing red buffer containing horseradish peroxidase conjugated recombinant HIV antigen	
3	HIV-1 Positive Control	1×1ml
	One bottle containing inactivated human serum consisting of antibodies to HIV-1 diluted in a buffer containing protein of bovine origin	
4	HIV-2 Positive Control	1×1ml

procedure, substrate is applied to indicate the test result. The appearance of blue color in microtiter wells indicates HIV reactive result. The absence of the color indicates non-reactive result in the specimen.

CONTENTS OF THE KIT

1	Antigen Coated Microtiter well Plate	1 plate (96T)
	One plate of 96 wells coated with recombinant HIV antigen	
2	Enzyme Conjugate	1×14ml
	One bottle containing red buffer containing horseradish peroxidase conjugated recombinant HIV antigen	
3	HIV-1 Positive Control	1×1ml
	One bottle containing inactivated human serum consisting of antibodies to HIV-1 diluted in a buffer containing protein of bovine origin	
4	HIV-2 Positive Control	1×1ml
	One bottle containing inactivated human serum consisting of monoclonal antibodies to HIV-2 diluted in a buffer containing protein of bovine origin	
5	Negative Control	1×1ml
	One bottle containing Normal human serum diluted in a buffer containing protein of bovine origin	
6	Color A (H ₂ O ₂ Solution)	1×14ml
	Hydrogen peroxide solution. Ready to use as supplied	
7	Color B (TMB Substrate)	1×14ml
	TMB solution. Ready to use as supplied	
8	Stop Solution (2M Sulfuric Acid)	1×14ml
	Ready to use as supplied.	
9	Concentrated Wash Buffer (20×)	2×25ml
	20 × PBS -T buffer, PH 7.4 DILUTE BEFORE USE	
10	Plate Sealer	3 pcs.
	For covering the plates during incubation to prevent evaporation or contamination of the wells	
11	Plastic Bag	1 pc.
	For enclosing the unused strips	
12	Package insert	1 copy

WARNING

1. For proper
2. The reagent
3. Shake ea
4. Do not u
5. Do not n
6. Avoid m
7. Avoid e
should t

SAFETY

1. Warnin
comp
No kn
deriv
there
infect
spec
pract
 2. Do r
 3. Do r
reac
 4. Ma
as
co
to
be
e
 5. A
- SE
- 1.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

1. Pipettes capable of delivering 1~1000 μ l
2. Pipette tips
3. 37°C incubator
4. Freshly deionized or distilled water
5. Micro-plate washer
6. Micro-well strips or plate reader with 450nm measuring wavelength and reference filter (615-690nm)

WARNINGS AND PRECAUTIONS

1. For professional use only.
2. The reagents are for in vitro diagnosis only.
3. Shake each liquid reagent gently before testing.
4. Do not use kit beyond the expiration date.
5. Do not mix reagents from different lots.
6. Avoid microbial contamination of reagents.
7. Avoid exposing Color B solution to strong light, metal, or oxidants. It should be colorless. Otherwise, it must be discarded.

SAFETY INSTRUCTIONS

1. Warning-potential biohazards material: this kit contains human blood components. Handle as if capable of transmitting infectious agents. No known test method can offer complete assurance that products derived from human source material will not transmit infection, therefore, all blood derivatives should be considered potentially infectious, it is recommended that these reagents and human specimens be handled using established good laboratory working practices. The Positive Control has been inactivated by heat treatment.

4. Freshly deionized water
5. Micro-plate washer
6. Micro-well strips or plate reader with 450nm measuring wavelength and reference filter (615-690nm)

WARNINGS AND PRECAUTIONS

1. For professional use only.
2. The reagents are for in vitro diagnosis only.
3. Shake each liquid reagent gently before testing.
4. Do not use kit beyond the expiration date.
5. Do not mix reagents from different lots.
6. Avoid microbial contamination of reagents.
7. Avoid exposing Color B solution to strong light, metal, or oxidants. It should be colorless. Otherwise, it must be discarded.

SAFETY INSTRUCTIONS

1. Warning-potential biohazards material: this kit contains human blood components. Handle as if capable of transmitting infectious agents. No known test method can offer complete assurance that products derived from human source material will not transmit infection, therefore, all blood derivatives should be considered potentially infectious, it is recommended that these reagents and human specimens be handled using established good laboratory working practices. The Positive Control has been inactivated by heat treatment.
2. Do not smoke or eat in areas where specimens or kits are handled.
3. Do not pipette by mouth. Wear PVC disposable gloves when handling reagents or specimens, and wash hands thoroughly when finished.
4. Materials used to clean spills, including gloves, should be disposed of as potentially biohazardous waste. Do not autoclave materials containing sodium hypochlorite. Non-acidic liquid waste can be diluted to a final concentration of 1.0%. Acidic liquid waste requires neutralization before similar treatment and should stand for 30 minutes to obtain effective disinfection.
5. Avoid contact sulfuric acid with skin or mucous membranes. If it comes in contact with skin, wash with tap water immediately.

SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

1. Serum and plasma containing normal dosage of common anticoagulants such as Sodium citrate plasma, EDTA plasma or

thawing, ensure samples are thoroughly mixed before testing

REAGENT STORAGE

1. The reagent kit must be stored at 2~8°C.
2. Unused wells should be covered with plate sealer provided, taken into the plastics bag along with the desiccant and returned to 2~8°C.
3. It is recommended to use up the reagents within 15 days after first opening.
4. Check concentrated wash buffer for the presence of salt crystals. If the crystal has been precipitated before use, warm up the solution in a 37~40°C water bath till crystal dissolves.

PREPARATION OF WASH BUFFER

1. Dilute 1 portion of concentrated wash buffer with 19 portions of deionized or distilled water. Mix well.
2. Diluted wash buffer may be stored at room temperature for 1 week.

ASSAY PROCEDURES

SEMI AUTOMATED PROCESSING

1. Bring all Reagents and Specimens to room temperature (18~25°C) for the assay. Swirl gently before use.
2. Prepare the needed number of wells, including One well for Blank, two wells for Negative Control, two wells for HIV-1 Positive Control, two wells for HIV-2 Positive Control and one well for each Specimen. Write down the serial numbers for the controls and specimens on the data sheet.
3. Add 50µl Specimen, Negative Control and Positive Control to each appropriate well according to the data sheet. (Reserve 1 well for blank)
4. Tap the plate to mix.

Note: Do not splash liquid onto the slip.

Incubator for 60minutes

1. Dilute 1 portion of concentrated wash buffer with 19 portions of deionized or distilled water. Mix well.
2. Diluted wash buffer may be stored at room temperature for 1 week.

ASSAY PROCEDURES

SEMI AUTOMATED PROCESSING

1. Bring all Reagents and Specimens to room temperature (18~25°C) for the assay. Swirl gently before use.
2. Prepare the needed number of wells, including One well for Blank, two wells for Negative Control, two wells for HIV-1 Positive Control, two wells for HIV-2 Positive Control and one well for each Specimen. Write down the serial numbers for the controls and specimens on the data sheet.
3. Add 50µl Specimen, Negative Control and Positive Control to each appropriate well according to the data sheet. (Reserve 1 well for blank)
4. Tap the plate to mix.
Note: Do not splash liquid onto the slip.
5. Incubate the plate in a 37°C water bath or incubator for 60minutes.
6. Wash each well five times with wash buffer by wash procedure:
 - a. Washing must be performed strictly according to the instructions, as incomplete washing will adversely affect the test outcome.
 - b. Aspirate the well contents completely into a waste flask. Then fill up the wells with wash buffer (350µl or more). Avoid overflow.
 - c. Make sure that no fluid remains on the strip holder and strips after the last aspiration (e.g., by blotting with absorbent tissue).

Note: Improper washing will cause false result.

7. Add 100µl Enzyme Conjugate working solution to each well.

Note: Do not touch the edge of well to avoid false result.

8. Incubate the plate in a 37°C water bath or incubator for 30minutes.
9. Wash each well five times with wash buffer by wash procedure.
10. Add 50µl Color A and 50µl Color B to each well in order, tap the plate to mix.
11. Incubate the plate in a 37°C water bath or incubator for 30 minutes.
12. Stop the reaction by adding 50µl Stop Solution to each well (maintain the same pipetting sequence and time intervals used for color A/B), Tap the plate to mix.
13. Read the absorbance of the solution in each well at 450nm (single wavelength) or 450 and 630nm as reference (dual wavelength).

Note:

Acquir J. (2006). Immune DeficSyndr 2006;42(1):123–6.

Agrawal L, Maxwell C-R, Peters P-J, Clapham P-R, Liu S-M, Mackay C-R, Stayer S. (2009).Complexity in human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) co-receptor usage: roles of CCR3 and CCR5 in HIV-1 infection of monocyte-derived macrophages and brain microglia. Journal of virology, 90, 710-722.

Avettand-Fenoel V, Hocqueloux L, Ghosn J, Cheret A, Frange P, Melard A et al.(2016).Total HIV-1 DNA, a marker of viral reservoir dynamics with clinical implications. Clin MicrobiolRev, 2016, 29:859-80.

Bennai G., Belebad H., Fakih T.(2015).Infections opportunistes sur VIH. Thèse de Doctorat en médecine, Université Abou Baker Belkaïd, Algérie, 88 p.

Beylot G. (2015). Délivrance des autotests de dépistage du VIH en officine. Actualités Pharmaceutiques, 2015, Vol 54, n°551, pages 1-5.

Blanche S. (2005). Infection de l'enfant par le virus de l'immunodéficience humaine.EMC médecine, 2(2005), 311-321.

CheriyedathSusha. (2019). February 26). HIV-1 contre HIV-2 : Quelle est la différence entre HIV-1 et HIV-2 ?News-Medical. Retrieved on December 16, 2020.

Chi Ngai Chan I- D, Hosie M, Willet B-J. (2013).Recent developments in human immunodeficiency virus-1 latency research. Journal of general virology, 94, 917-932.

Clapham P-R, Mcknight A. (2002). Cell surface receptors, virus entry and tropism of primate lentiviruses. Journal of generalvirology, 83, 1809-1829.

COREVIH Pays de la Loire. (2016). Dossier de Presse : Journée mondiale de lutte contre le SIDA,01décembre2016,[enligne],https://www.corevihpdl.fr/images/menu_commission/1er_décembre/DOSSIER%20DE%20PRESSE%2001-12-2016%20VF%20.

CRIPS. (2007) : Le centre regional d'information et de prevention du sida et pour la sante des jeunes.inspiré de .Barré-Sinoussi,M.Kazatchkine,crispile-de-France .

Cyril M. (2009). Technique ELISA sandwich pour le dosage sur serum, plasma, ou culture cellulaire de molécules à faibles concentration. Université Lyon 1 .

Descamps D, GH Bichat-Claude Bernard. (2015). INSERM UMR 1137 Université Paris-Diderot Sorbonne Paris cite. Infection VIH: Outils Virologiques.Diagnoctic de l'infection quantification virale résistance. (2015).

Descamps Diane, GH Bichat-Claude Bernard.(2015).INSERMUMR 1137. Université Paris-Diderot Sorbonne Paris cité. DESC Pathologie Infectieuse et Tropicale.

Ecole de l'ADN de Nimes.(2016).E-mail : info@ecole-adn.fr.<http://www.ecole-adn.fr>. La Reaction de Polymerisation en Chaine (PCR) principes et applications.

Frange P, Blanche S. (2014). VIH et transmission mère-enfant. La presse médicale.2014 ; 43(6) :691-697.

Gayraud M. et Lortholary O. (2010). Soins infirmiers aux personnes atteintes de maladies infectieuses et aux personnes atteintes de l'infection par le VIH. 2eme Edition, Masson, 156.

Gerbouin O, Grellet J.(2017). Virus de l'immunodéficience humaine : cycle viral et épidemiologie. Actualités pharmaceutiques.2017 ; 56(564) :1-2.

Girard PM, Katlama C, Pialoux G. VIH. Rueil-Malmaison : Doin, 2011. Chap 6, *Primoinfection VIH*, 79-84.

Girard PM, Katlama C, Pialoux G. VIH. Rueil-Malmaison : Doin, 2011. Chap 2, *Virologie médicale et infection VIH*, pag13-25.

Girard PM, Katlama C, Pialoux G.(2011).VIH Rueil-Malmaison ,*Virologie fondamentale de l'infection VIH*, 3-12 Doin Paris, p. 839 .

Gray RH, Wawer MJ, Brookmeyer R, Sewankambo NK, Serwadda D, WabwireMangen F et al (2001). Probability of HIV-1 transmission per coital act in monogamous, heterosexual, HIV-1-discordant couples in Rakai, Uganda. Lancet, 2001, 357:1149-53. Guide du conseil et du dépistage du VIH à l'initiative du soignant dans les établissements de santé.

Grosjean J, Clavé D, Archambaud M, Pasquier C. (2016). Bactériologie et virologie pratique. Edition De Boeck, pp. 285, 287.

Harries AD, Kumar AM, Kyaw NTT, Hoa NB, Takarinda KC, Zachariah R. (2016). The role of antiretroviral therapy in reducing TB incidence and mortality in high HIV-TB burden contries. Asian Pacific journal of tropical disease.2016; 6(3):243-7.

HAS. (2009).haute autorité de santé. Dépistage de l'infection par le VIH en France : stratégies et dispositif de dépistage.

[en ligne], http://social-sante.gouv.fr/IMG/pdf/argumentaire_depistage_vih_HAS_2009-2.

<https://www.newsmedical.net/health/HIV-1-versus-HIV-2-Whats-the-Difference.aspx>.

Institut Pasteur. La découverte du virus du sida en 1983, [en ligne], <http://www.pasteur.fr/fr/institut-pasteur/espace-presse/documents-presse/la-recherche-sur-levihsida-l-institut-pasteur/la-decouverte-du-virus-du-sida-en-1983>;

IRD.(2015) : Institut français pour la recherché et le developpement.sur L'OBS>SANTE.03/03/2015.

Jose M-G-A, Holguin A, Garcia R, Garcia-Bujalance S, Alonso R, Suares A, Delgdo R, Cardenso L, Gonzalez R, Garcia-Bermejo I, Portero F, De Mendoza C, Gonzalez-Candelas F, Galan J-C. (2011).Molecular surveillance of HIV-1 in Madrid Spain : a phylogeographic analysis. Journal of Virology, 85(20), 1-10.

Kacem N S (2015).ouvrage test ELISA page 3.

Keita M. (2014).Etude des arrêts des premières lignes de traitements antirétroviraux à l'ère de la stratégie « Seek, Test, Treat, and Retain (STTR) ».Thèse de doctorat en épidémiologie, L'université de Toulouse, p240.

Keita M. (2014). Etude des arrêts des premières lignes de traitements antirétroviraux à l'èrede la stratégie « Seek, Test, Treat, and Retain (STTR) ».Thèse de doctorat en épidémiologie,L'université de Toulouse, 240 p.

Kinugawa K, Planquette B, Roupret M, Rousseau M, Rose E, Skurnik D, Soria A. (2010). Processus inflammatoires et infectieux. Edition Elsevier Masson, p11.

Labdouni Mohammed El Habib. (2019).Maitre-Assistant en Maladies Infectieuses.Thèse de doctorat en sciences médicales.AspectEpidémio-chimique et therapeutiques de la coinfection Tuberculose/VIH chez les patients Suivis dans le Centre de Référence de prise en charge des patients vivant avec le VIH dans l'Ouest Algérien.

Lacombe K, Girard PM, la revue du praticien : 2003 :53.

Laguet N, Benichou S, Basmaciogullari S. (2009). Effet de la protéine régulatrice Nef sur le pouvoir infectieux du virus de l'immunodéficience humaine. *Virologie*, 12(6), 439-451.

Le Faou A. *Virologie humaine*. Rueil-Malmaison : Pradel, 2012. Chap 20, *L'infection par le virus de l'immunodéficience humaine*, pages 335-353.

Li G, Elder RT, Dubrovsky L, Liang D, Pushkarsky T, Chiu K, Fan T, Sire J, Bukrinsky M, Zaho R-Y. (2010). HIV-1 replication through hHR23A-Mediated Interaction of Vpr with 26s proteasome. *PLoS ONE*, 5(6), 1-11.

Marvel J. (2020). Test ELISA : quel est le principe ? Sur journal des femmes sante.

MASSMP (2013).Ministère des affaires sociales et de la santé et Morlat P. Prise en charge médicale des personnes vivant avec le VIH. Rapport 2013 : recommandations du groupe d'experts.Paris : DILA, 2013. Chap. 2, *Dépistage*, 41-55.

Mely Y. (2008). La protéine tat du VIH-1.Laboratoire de biophotonique et pharmacologie. Université Strasbourg, Centre National de la Recherche Scientifique, France.

Morlat P. (2017). Prise en charge médicale des personnes vivant avec le VIH : recommandations du groupe d'experts : rapport 2013 : direction de l'information légale et administrative.

OMS et ONUSIDA (2007). Guide du conseil et du dépistage du VIH à l'initiative du soignant dans les établissements de santé. Programme VIH/SIDA.

OMS, ONUSIDA.(2007). Genève, Suisse, mai 2007.

OMS. (2013). Lignes directrices unifiées sur l'utilisation des antirétroviraux pour le traitement et la prévention de l'infection a VIH : Recommandations pour une approche de sante publique. Genève, Organisation mondiale de la Sante.

OMS.(2020).Organisation mondiale de la Santé . La présente publication est disponible sous la licence Creative Commons Attribution – 3.0 IGO (CC BY NC-SA 3.0 IGO ; <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/igo/deed.fr>).ISBN 978-92-4-000411-5 (version électronique) ISBN 978-92-4-000412-2 (version imprimée).

ONUSIDA (2017). 90-90-90 : une cible ambitieuse de traitement pour aider à mettre fin à l'épidémie du sida, [en ligne], http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/90-90-90_fr.pdf.

Osmopharm. (2019). pharmaceutical manufacturer of oral solidmodifiedrelease.découverte d'une mutation génétique qui immunise contre le VIH.

Paoletti A. (2019). Hiv-1 Envelope Overcomes NLRP-Mediated inhibition of Action polymerization for viral entry. cell reports du 24/09/2019 DOI:10.1016/j.celrep.2019.02.095

Pasquet A. Yazdanpanah Y. (2012). Infection à VIH. La revue du praticien, 2012, Vol 62, pages 255-263.

Plan national stratégique de lutte contre les IST/SIDA. (2020) ONUSIDA. Algérie .edition2020.

Poitras E. Houde A. (2002). La PCR en temps réel : Principe et application. Biology and biotechnology, 2(2), 2-11.

Razik F. (2017). Contexte algérien de la réponse au VIH. Atelier de débriefing Post-AIDS 2016, Nouveautés et faits marquants de la conférence de Durban, Association de lutte contre le SIDA, 15-17 Mars 2017, Casablanca, Maroc. Recommandations conjointes OMS/OIT sur la prophylaxie post-exposition(PEP) pour prévenir l'infection à VIH .2008 .

Rebecca L-R, Powell, Jiangqin Z, Frank A-J, Kounings, Shixing T, Aubin N, Sherri B, Mateusz M, Urbanski D-R, Indira H, Nyambi P-N. (2007). Identification Of A Novel Circulating Recombinant Form(CRF) 36_Cpx In Cameroon That Combines Two Crfs (01_AE And _AG) With Ancestral Lineages Of Subtypes A And G. Aids Research And Human Retroviruses. 23(8), 1-12.

Références bibliographiques

Roqubert B, Damond F, Brun-Vézinet F, Descamps D. (2009). Diversité génétique des VIH et ses conséquences. Pathologie biologique. 2009; 57(2):142-8.

Sierra S, Kupfer B, Kaiser R. (2005). Basics of the virology of HIV-1 and its replication. Journal of Clinical Virology, 2005, Vol 34, n°4, pages 233-244.

Supervie V.Ekouevi DK. (2014). Infection par le HIV épidémiologie en France et dans le monde, la revue du praticien.2014;64:1060-1066 .

Timsit J. Janier M. (2017). Infection par les virus de l'immunodéficience humaine (VIH)-Syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA). Dermatologie et infections sexuellement transmissible.2017 :176-183.

Tse C. Capeau J. (2003). Quantification des acides nucléiques par PCR quantitative en temps réel. *Annale de Biologie Clinique*, 61 :279–293. UNAIDS/WHO polycystatement on HIV testing, juin 2004.

Uhel F, Zafrani L (2019).Commission de la recherche transrationnelle de la société de réanimation de la longue française(2019).Nouvelles techniques de biologie moléculaire.Med.IntensiveRea.DOI : 10.3166/rea-2019-0119.

Viviana S, HO D, Quarraisha A-K. (2006). HIV/AIDS epidemiology, pathogenis, prevention, and treatment. Seminar, 368, 489-504.

W.H.O. (2015).World Health Organisation .traiter toutes les personnes vivants avec le VIH 2015 à GENEVE.

Winnie W, Ruhl H-R, Lewis P, Bentley M, Jay A, Nelson Ashlee V, Moses. (2004). Human immunodeficiency Virus (HIV) type 1 Induces the Expression of CD40 in Endothelial cells and Regulates HIV-Induced Adhesion of B-Lymphoma Cells. *Journal of virology*. 78(9). 4408-4420.

Xiao-Qing Z, Xiao-Li H, Phalguni, Luann B., Zheng F, Watkins S, Elaine K-T, Charles R, Rinaldo JR. (2002). Induction of anti-human immunodeficiency Virus Type 1 (HIV-1) CD8+ and CD4+ T-cell Reactivity by Dentrific Cells Loaded with HIV-1 X4-Infected Apoptotic.*Journal of virology*, 76(6), 3007-3014.

Les sites:

- www.journaldusida.org › recherche.2019 ;
- [www.lumni.fr/article/quelle set la differencce entre le sida et le .](http://www.lumni.fr/article/quelle-set-la-differencce-entre-le-sida-et-le-vih)2015 ;
- www.medecinesciences.org › 2014/01;
- www.sida-info-service.org › le-vih-.2015 .
- www.unaids.org/sites/de.fault/files/media_asset/UNAIDS_factsheet_fr.pdf.page;
- www.who.int/hiv/pub/guidelines/arv2013/download/fr/, page consultee le 5 fevrier 2020) ;
- [www.who.int/VIH/data/incidence_target_2016.png ?ua=1](http://www.who.int/VIH/data/incidence_target_2016.png?ua=1);

Resumé

Le dépistage du VIH/SIDA est réalisé avec des techniques sérologiques différentes : la technique ELISA de quatrième génération combiné, à la fois recherche de l'antigène p24 et les anticorps anti HIV-1, la PCR en temps réel qui est une technique de référence par sa sensibilité et sa fiabilité, utilisée surtout dans le diagnostic du VIH chez les sujets moins de 18 mois et aussi d'une grande utilité dans le suivi de la charge virale des patients atteints du VIH sous traitement antirétroviraux. Le test rapide TROD est utilisé pour la confirmation du résultat. Selon les instructions de l'OMS un résultat positif du VIH n'est rendu qu'après confirmation avec trois tests différents.

Le contrôle de la charge virale permet aux patients de bien suivre l'évolution de leur maladie, et aussi prouve l'efficacité du traitement.

Dans notre travail, on prouve que les traitements ont donné de bons résultats, et que la plus part des patients présentent au bout de six mois à une année une charge non détectable du virus ce qui les rends non transmissible à la maladie, d'où le dépistage précoce aide beaucoup dans la prévention et la propagation de cette pandémie VIH/SIDA.

Abstract

HIV / AIDS screening is carried out with different serological techniques: the combined fourth generation ELISA technique, both search for p24 antigen and anti HIV-1 antibodies, real-time PCR which is a reference technique by its sensitivity and reliability, used especially in the diagnosis of HIV in subjects less than 18 months and also of great utility in monitoring the viral load of HIV patients on antiretroviral treatment. The TROD rapid test is used for confirmation of the result. According to WHO instructions, a positive HIV result is only returned after confirmation with three different tests.

Controlling the viral load allows patients to follow the progress of their disease, and proves the effectiveness of the treatment.

In our work, we prove that the treatments have given good results, and that most of the patients present after six months to a year an undetectable load of the virus, which makes them non-transmissible to the disease, hence early detection helps a lot in the prevention and spread of this HIV / AIDS pandemic.