



Université Mohamed Khider de Biskra  
Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie  
Département des sciences de la nature et de la vie

## MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie  
Filière : Sciences biologiques  
Spécialité : Microbiologie appliquée

Réf. : .....

---

Présenté et soutenu par :  
**Yamina BARKAT et Nouzha ELBAH**

Le : Mardi 9 juillet 2019

### Thème

**Etude séro-épidémiologique de l'infection par le  
VIH/SIDA au niveau de sud Algérien  
cas de la wilaya de Biskra**

---

#### Jury :

Mme. Cherifa GUALLATI	MAA Université de Biskra	Président
M. Badreddine ATTIR	MCB Université de Biskra	Rapporteur
Mme. Hayet AOURAGH	MAA Université de Biskra	Examineur

Année Universitaire : 2018-2019

## Remerciements

Nous remercions notre Allah tout puissant de nous avoir accordé santé, courage et la volonté pour accomplir ce modeste travail.

Nous tenons également à remercier notre encadreur Dr Attir Badr Eddine pour l'aide et l'assistance qu'il nous a fourni afin de nous permettre de mener à bien et à terme ce mémoire de fin d'études, et qu'il nous soit permis de leur exprimer notre profonde reconnaissance.

Nous exprimons notre grand respect aux honorables membres de jury Dr Cherifa GUALLATI et Hayat AOURAGH qui ont accepté d'évaluer ce travail.

Nous tenons là à remercier vivement :

Dr Assassi Abd Rahmen : chef du conseil médical au niveau d'EPSP Biskra.

Dr Mesbah L : Médecin épidémiologiste au service d'épidémiologie et médecine préventive.

Dr Chabbi Nadia : Médecin biologiste au niveau de centre de dépistage volontaire.

Dr Mensouri : Médecin spécialiste en maladies infectieuses au CDV.

Dr HAffadh : Médecin spécialiste en maladies infectieuses au CDV.

Dr Khelil : Médecin microbiologiste au niveau d'EPH Dr Hakim Saadan.

M. Nadji Djamel : Chef service d'épidémiologie et médecine préventive au niveau de la direction de la santé Biskra.

Les techniciens de laboratoire CDV.

Nos collègues de l'EPSP Biskra, et en particulier nos collègues de polyclinique HLM.

Nous tenons tout simplement à exprimer notre profonde gratitude à tous ceux qui nous ont soutenus de près ou de loin durant tout notre cursus.

## Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

La mémoire de ma sœur Safa Allah yarhamha

Mes très chers parents qui ont fait beaucoup de sacrifices et continuent d'en faire pour me voir réussir, qui ont veillé à mon instruction et qui m'ont soutenu durant toutes ces années.

Mes très chers frères Mohamed, Yacine, Lotfi, Housseem.

Mes adorables sœurs : Soumia, Karima, Amel, Hind

Mes beau Frères : Ibrahim, Badr Eddine, Youcef, Zakaria.

Mes belles sœurs.

Grand merci a tous ceux qui m'ont soutenu de près ou de loin dans l'élaboration de ce travail.

Barkat Yamina

## Sommaire

Remerciements	
Dédicace	
Liste des Tableaux.....	<b>I</b>
Liste des Figures.....	<b>II</b>
Liste des abréviations.....	<b>III</b>
Introduction .....	<b>1</b>

### SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

#### Chapitre 1. RAPPEL BIBLIOGRAPHIQUE

<b>1.1. Taxonomie .....</b>	<b>5</b>
<b>1.2. Structure du virus VIH .....</b>	<b>5</b>
<b>1.3. Les variétés du virus VIH .....</b>	<b>6</b>
<b>1.4. Cycle de réplication du virus VIH.....</b>	<b>6</b>
<b>1.5. Cellules cibles de l'infection par le VIH .....</b>	<b>7</b>
<b>1.6. Mode de transmission.....</b>	<b>7</b>
1.6.1. Transmission sexuelle.....	7
<b>1.6.2. Exposition au sang .....</b>	<b>7</b>
1.6.3. Transmission de la mère à l'enfant.....	7
<b>1.7. Evolution de l'infection par le VIH.....</b>	<b>7</b>
1.7.1. Primo-infection .....	8
1.7.2. Phase asymptomatique (latence clinique).....	8
1.7.3. Phase symptomatique ou SIDA .....	8
<b>1.8. Traitement.....</b>	<b>9</b>
<b>1.9. Prévention de la transmission du VIH.....</b>	<b>9</b>
<b>1.10. Diagnostic biologique .....</b>	<b>9</b>
1.10.1. Test de dépistage.....	10
1.10.1.1. Technique ELISA.....	10

1.10.1.2. Test TROD .....	10
1.10.2. Test de confirmation .....	10
1.10.2.1. Western blot .....	10

## **Chapitre 2: EPIDEMIOLOGIE DE L'INFECTION PAR LE VIH**

<b>2.1. Epidémiologie dans le monde .....</b>	<b>12</b>
2.1.1. Statistiques mondiales sur le VIH en 2017 .....	12
<b>2.2. Epidémiologie de le VIH en Algérie.....</b>	<b>12</b>
<b>2.3. Epidémiologie au niveau de la wilaya de Biskra.....</b>	<b>13</b>

## **PARTIE EXPERIMENTALE**

### **Chapitre 3: MATERIEL ET METHODES**

<b>3.1. Matériel.....</b>	<b>16</b>
3.1.1. Lieu d'étude .....	16
3.1.2. Présentation du centre .....	16
3.1.3. Type et période d'étude .....	16
3.1.4. Population d'étude .....	16
3.1.4.1. Les critères d'inclusion .....	16
3.1.4.2. Critères de non inclusion.....	17
3.1.4. Supports des données.....	17
3.1.5. Les aspects éthiques .....	17
<b>3.2. Méthodes.....</b>	<b>18</b>
3.2.1. Test de dépistage.....	18
3.2.1.1. Technique ELISA.....	18
3.2.1.2. Test rapide (TROD) .....	24
3.2.2. Test de confirmation .....	25

### **Chapitre 4: RESULTATS ET DISCUSSION**

<b>4.1. Résultats .....</b>	<b>27</b>
4.1.1. Résultats de l'étude sérologique .....	27

4.1.1.1. ELISA.....	27
4.1.1.2. Test TROD .....	28
4.1.2. Résultats de l'étude épidémiologique .....	30
4.1.2.1. Répartition selon le sexe .....	30
4.1.2.2. Répartition selon l'âge .....	31
4.1.2.3. Répartition selon les communes de résidence .....	31
4.1.2.4. Répartition selon l'année de diagnostic .....	32
<b>4.2. Discussion .....</b>	<b>33</b>
<b>Conclusion.....</b>	<b>36</b>
<b>Bibliographie .....</b>	<b>38</b>
<b>Annexes</b>	

## Liste des Tableaux

Tableau 1. Classification clinique de l'infection d'après le CDC 1993 .....	7
Tableau 2. Données mondiale sur le VIH .....	12
Tableau 3. Répartition des personnes nouvellement infectés avec le VIH selon l'âge.....	31
Tableau 4. Répartition des personnes nouvellement infectés selon les communes de résidence .....	31
Tableau 5. Répartition des personnes nouvellement infectés selon l'année de diagnostic .....	32

## Liste des Figures

Figure 1. Schéma organisationnel du virus VIH .....	5
Figure 2. Cycle de réplication du virus VIH .....	6
Figure 3. Nouvelles infections avec le VIH/an .....	13
Figure 4. Kit de diagnostic pour VIH (ELISA).....	18
Figure 5. Préparation de la microplaque. ....	19
Figure 6. Distribution de l'échantillon.....	20
Figure 7. La microplaque couverte. ....	20
Figure 8. Incubation de la microplaque.....	21
Figure 9. Lavage de la microplaque .....	21
Figure 10. Distribution du conjugué .....	22
Figure 11. Addition du substrat.....	23
Figure 12. Ajout de la solution d'arrêt.....	23
Figure 13. Lecture de la microplaque.....	24
Figure 14. Test de diagnostic rapide du VIH format cassette. ....	24
Figure 15. Résultat du test ELISA. ....	27
Figure 16. Résultat de test TROD. ....	28
Figure 17. Répartition des personnes nouvellement infectés avec le VIH selon le sexe .....	30



## Liste des abréviations

**AC** : Anticorps

**ARN** : Acide ribonucléique.

**ARN<sub>v</sub>** : Acide ribonucléique viral.

**ARV** : Antirétroviraux

**CD4**: Cluster for differentiation 4.

**CDC** : Center for Diseases Control.

**CDV** : Centre de dépistage volontaire.

**CV** : Charge virale

**DGPPS** : Direction générale de la prévention et de la promotion de la santé.

**DSP** : Direction de la santé et de la population.

**IgG** : immunoglobulines G

**ELISA**: Enzym Linked Immunosorbent Assay.

**INNRT** : Inhibiteur Non Nucléosidique de la Reverse Transcriptase.

**INRT** : Inhibiteur Nucléosidique de la Reverse Transcriptase.

**IP** : Inhibiteur des Protéases.

**IST** : Infection sexuellement transmissible.

**LNR** : Laboratoire National de Référence.

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé.

**ONUSIDA** : Organisation des nations unies contre le SIDA.

**PS** : professionnelles du sexe.

**PVVIH** : Personne vivant avec le VIH.

**SIDA** : Syndrome de l'Immunodéficience Acquise.

**TROD** : Test Rapide d'Orientation Diagnostique.

**VIH** : Virus de l'Immunodéficience Humaine.

## Introduction

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. L'état des connaissances, notamment sur les voies de transmission, avancement et l'agent causal est décrit en 1983 par l'équipe de chercheurs dirigée par Luc Montagnier au sein de l'institut Pasteur de Paris (Marseille, 2018).

Deux types ont été identifiés à ce jour. En 1983 L. Montagnier, J.C. Chermann, et Barré Sinoussi du département de rétro virologie de l'Institut Pasteur de Paris 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 qui n'a pas connu un développement mondial même si des cas sporadiques ont été signalés de par le 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 avec ses nombreuses répercussions socio-économiques. En effet depuis la description des premiers cas en 1983, l'infection par le VIH est devenue une véritable pandémie (Ouedraogo, 2004).

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.

La première approche de surveillance épidémiologique en Algérie a consisté à intégrer la notification des cas de sida et de VIH dans le système existant de notification routinière des maladies transmissibles. Depuis 1990, le VIH/SIDA est à déclaration obligatoire en Algérie (DGPPS, 2013).

Au 31 décembre 2014, et depuis le début de l'épidémie, un total cumulé de 9103 personnes ont été diagnostiquées séropositives pour le VIH avec comme sérotype le VIH1.

Parmi ces personnes séropositives, un total de 1561 personnes a été diagnostiqué au stade de sida maladie.

En 2014, 845 infections par le VIH ont été diagnostiquées, dont 435 hommes et 410 femmes. Les groupes d'âges les plus touchés sont les 25- 29 et les 30-34 ans avec respectivement 13.2 % et 16.3 % des nouveaux cas. Le groupe d'âge de 0-4 ans représente 3.9 % des nouvelles infections (ONUSIDA, 2014).

La répartition par sexe et par groupe d'âge pour les personnes diagnostiquées avec le VIH entre 1985 et 2014, montre que les groupes d'âge les plus représentés sont ceux des 25 à 39 ans avec un sexe ratio homme/femme de 1.36. Dans le groupe des 20-24 ans, le nombre de femmes diagnostiquées est plus important avec un sex-ratio de 0,77. D'une manière globale, les femmes représentaient près de 47 % des nouveaux cas d'infection à VIH en 2014 (DGPPS, 2015).

Notre travail aura pour objectifs d'étudier les caractéristiques épidémiologiques du VIH/SIDA au niveau de la wilaya de Biskra de 2016 à 2018 et d'identifier les techniques de diagnostic de l'infection du VIH/SIDA au niveau de centre de dépistage volontaire (wilaya de Biskra).

Notre travail comporte deux parties :

-Une partie théorique, cette partie comprend deux chapitres dont :

Le premier chapitre : est basée sur une recherche bibliographique et documentaire qui nous a permis d'élaborer une grille de lecture afin de cerner les éléments essentiels de notre sujet d'étude.

Le deuxième chapitre : Epidémiologie de l'infection par l'VIH

-Une Partie pratique est basée sur une étude de dossiers médicaux des patients, notre démarche était orientée vers l'étude et l'observation de la stratégie de diagnostic du VIH en particulier la technique ELISA et test TROD, cette partie comprend deux chapitres :

Le troisième chapitre : Matériel et méthodes.

Le quatrième chapitre : Résultats et discussions.

# **Synthèse bibliographique**

# **Chapitre 1**

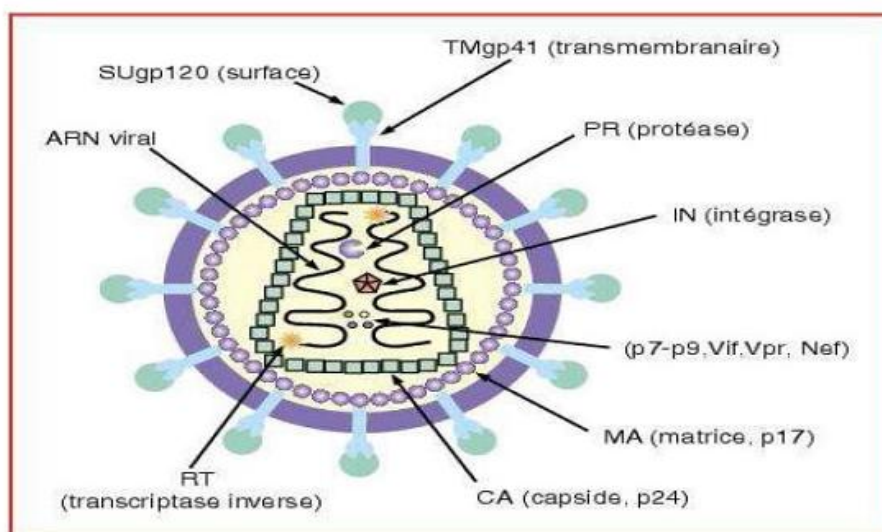
## **Rappel bibliographique**

## Chapitre 1. Rappel bibliographique

### 1.1. Taxonomie

Le virus de l'immunodéficience humaine VIH appartient à la famille des *retroviridae*, sous famille des *orthoretrovirinae*, au genre des *Lentivirus*. Ils sont lytiques, responsables de la destruction et de la mort de la cellule infectée (effet cytopathogène) et aussi responsable d'infection à évolution lente (DGPPS, 2015).

### 1.2. Structure du virus VIH



**Figure 1.** Schéma organisationnel du virus VIH (Bennai *et al.*, 2015)

Le VIH est un virus sphérique de 100 à 120 nanomètre de diamètre, il se compose principalement de trois entités structurales (Figure 1) :

- L'enveloppe sous forme d'une membrane phospholipidique.
- Le core viral est entouré par l'enveloppe. Il renferme la troisième entité structurale. Il est aussi cytopathogène à travers ses protéines.
- La nucléocapside qui renferme le génome viral sous forme d'ARN est un ensemble d'enzymes parmi lesquelles se retrouve la transcriptase inverse qui constitue réellement l'enzyme clé pour le transfert de l'information génétique (Bouchagra, 1995).

La molécule d'ARN des VIH est constituée de 3 gènes principaux :

- Le gène GAG codant pour la synthèse des protéines de capsid (nommée p13, p18, p24)
- Le gène POL codant pour les protéines de réplication.
- Le gène ENV codant pour les protéines d'enveloppe (appelée gp 41, gp 110, gp 160)

(Hugard, 2008).

### 1.3. Les variétés du virus VIH

IL existe deux types de VIH : VIH1 et VIH2, On peut classer les VIH en sous types :

VIH1 : Le sous -type M (Majeur) 10 variétés (A, B, C, D, E, F, G, H, I et J), le sous-type O (Outlier) (endémique au Gabon et au Cameroun).

VIH2 : cinq sous-types (A, B, C, D et E), Endémiques en Afrique de l'ouest, sporadique au Etats-Unis, Brésil et Inde) (Veron et Pebret, 1996).

### 1.4. Cycle de réplication du virus VIH

- Attachement du virus grâce à la protéine de surface gp120 et aux corécepteurs.
- Pénétration par fusion. Décapsidation et libération de l'ARNv dans le cytoplasme.
- Transcription inverse grâce à la Reverse Transcriptase contenue dans la paroi virale, Passage dans le noyau, circularisations et intégration.
- Réplication Transcription grâce à l'ARN pol II cellulaire. Traduction en protéines précurseurs: la protéase virale permet le découpage des précurseurs.
- Assemblage des virions. Bourgeonnement à la membrane plasmique.
- Libération (Figure 2) (Camara, 2009).

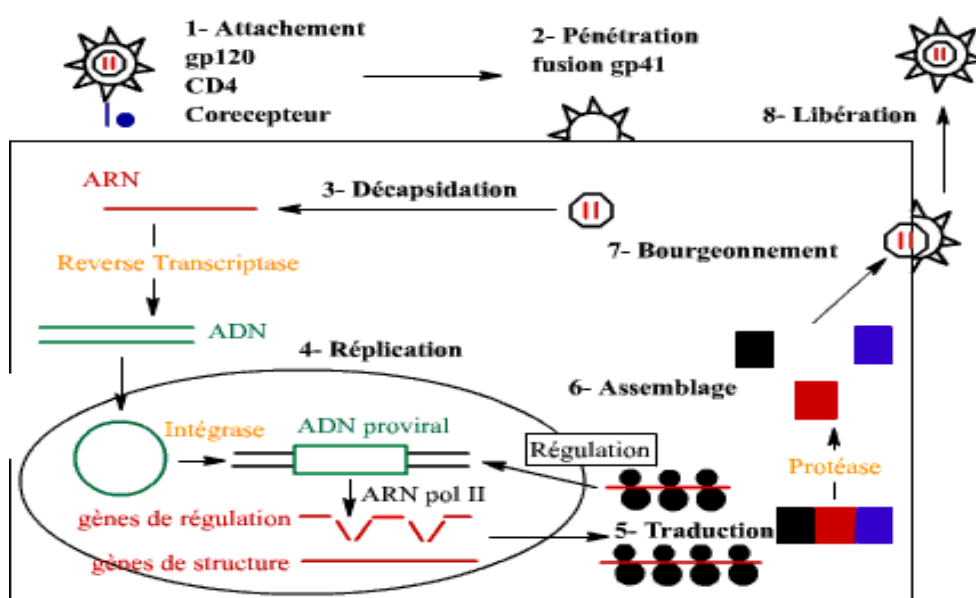


Figure 2. Cycle de réplication du virus VIH (Camara, 2009)

### 1.5. Cellules cibles de l'infection par le VIH

Il s'agit : Des lymphocytes CD4 qui possèdent le récepteur CD4 et les corécepteurs nécessaires à la pénétration du virus dans la cellule. Ces cellules cibles du VIH constituent la clé de voûte du système immunitaire ; leur destruction progressive conduit à une immunodépression majeure ; d'autres cellules telles que les monocytes/macrophages, les cellules dendritiques, les cellules de Langerhans dans la peau et les cellules microgliales dans le cerveau (Katlama et Ghosn, 2008).

### 1.6. Mode de transmission

#### 1.6.1. Transmission sexuelle

La transmission sexuelle du virus se fait par le sperme, les sécrétions cervico-vaginales et la muqueuse anale, une seule exposition suffit. Une séropositivité est possible après insémination artificielle. La transmission buccale (fellation) est probable. La transmission par la salive, objet de controverse, semble possible mais le risque est faible (Mahdjoub, 1992).

#### 1.6.2. Exposition au sang

La transmission sanguine peut avoir lieu par l'échange d'aiguille contaminée chez les toxicomanes, ou bien de façon accidentelle chez les personnels de santé et les chercheurs ou encore au cours d'une transfusion sanguine ou suite à une transplantation (Leghmari, 2008).

#### 1.6.3. Transmission de la mère à l'enfant

Le VIH peut être transmis de la mère à l'enfant *in utero*, autour de l'accouchement ou après la naissance pendant l'allaitement. Traitement prophylactique ou antirétroviral a réduit considérablement le taux de transmission verticale (Volberding *et al*, 2012).

### 1.7. Evolution de l'infection par l'VIH

**Tableau 1.** 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/ $\text{mm}^3$	A2	B2	C2
$< 200/\text{mm}^3$	A3	B3	C3



L'infection évolue en trois phases, l'incubation d'environ 3 semaines (tableau 1+ Annexe 1).

### **1.7.1. Primo-infection**

Souvent asymptomatique ou d'aspect anodin. Elle correspond à une réplication intense du VIH avant la mise en place d'une réponse immune. Les signes clinique sont non spécifiques, variables et régressent spontanément : pharyngite, angine, fièvre, polyadénopathie, méningite (Grosjean *et al.*, 2016).

Ces symptômes sont appelé le syndrome rétroviral aigu. Ce syndrome survient classiquement entre 1 et 3 semaines après l'infection initiale et dure 1 à 2 semaines. Durant cette phase, le système immunitaire répond à la présence de l'VIH. Habituellement en 3 semaines à 6 mois, la personne infectée va développer des anticorps contre le virus. A ce moment, une recherche des anticorps VIH dans le sang est le seul moyen de déterminer si elle a été infectée (Stanley et Beare, 2005).

### **1.7.2. Phase asymptomatique (latence clinique)**

Après la période de primo infection, la réplication du virus dans le sang diminue et se stabilise à un niveau qui varie selon les personnes. Les personnes dont le système immunitaire reste à peu près intact après 10 ans représentent environ 10% des personnes atteintes par le VIH. Plus souvent, la quantité de virus augmente dans le sang et le nombre de lymphocytes CD4 diminue sur des périodes pouvant s'étendre de 3 à 12 ans. La phase de séropositivité sans symptôme clinique correspond à la période durant laquelle les effets toxiques du virus semblent apparemment contrôlés par l'organisme, notamment par le système immunitaire (Hidreau, 2006).

### **1.7.3. 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. Il existe une très grande diversité de manifestation de la maladie SIDA. On

les résume en trois grands groupes : les cancers, les infections opportunistes et les manifestations neurologiques lorsque le VIH pénètre dans le cerveau (Keita, 2014).

### **1.8. Traitement**

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 mm<sup>3</sup>, ou lorsque la charge virale est trop élevée, notamment supérieur à 100000 par mm<sup>3</sup> (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* et *in vitro* 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 (Gayraud et Lortholary, 2010).

### **1.9. Prévention de la transmission du VIH**

Parmi les moyens de prévention on peut évoquer :

- Diminution du nombre de partenaires sexuels, utilisation des préservatifs masculins.
- Dépistage systématique des donneurs de sang pour le VIH, diminution du nombre de transfusion, éviter autant que possible les injections cutanées avec des matériels non stérilisés.
- Prévention des femmes sexuellement actives, encourager la contraception chez les femmes séropositives, proscrire l'allaitement maternel.
- Application stricte des règles d'hygiène et mesures de désinfection pour le personnel de santé (Noutsu, 2004)

### **1.10. Diagnostic biologique**

Le diagnostic indirect ou sérologique de l'infection par le VIH, repose sur la détection d'anticorps dirigés contre le virus, dans le sérum du patient suspect. Ces techniques de détection sont classées en deux catégories : les tests de dépistage servant à déceler les personnes qui présentent une infection par le VIH et les tests de confirmation, permettant de garantir l'exactitude d'un résultat positif obtenu (Marchandot, 2011).

### **1.10.1. Test de dépistage**

#### **1.10.1.1. Technique ELISA**

Les tests immuno-enzymatiques ELISA actuels sont dits de 4<sup>ème</sup> génération ou combinés car ils détectent les anticorps anti-VIH et l'antigène p24 de manière simultanée.

Ces tests ELISA combinés ont une sensibilité de 100% (en dehors de la période de séro-conversion) et une spécificité de 99,5%. Le test est considéré comme fiable s'il est réalisé après une période de 6 semaines après la dernière exposition au virus (Lafon-Desmurs, 2014).

#### **1.10.1.2. Test TROD**

Les tests rapides d'orientation diagnostic, mis au point en 2002, est une technique immunochromatographique de diagnostic de l'infection par le VIH consistant à prendre une gouttelette de sang et la déposer sur une bandelette réactive. (Lafon-Desmurs, 2014).

Tous les tests de dépistage comportent le risque de résultats faussement positifs, risque qui persiste même s'il est très faible, en dépit des progrès les plus récents. Cette limite impose, en cas de positivité ou de discordance, le recours à des tests de confirmation (Sagara, 2014).

### **1.10.2. Test de confirmation**

#### **1.10.2.1. Western blot**

Le Western Blot est souvent considéré comme la méthode de référence. Les protéines d'un lysat viral VIH1 ou VIH2 sont séparées par migration électrophorétique en fonction de leur poids moléculaire sur un gel de polyacrylamide puis transférées sur une membrane de nitrocellulose, où elles seront reconnues par les anticorps spécifiques anti VIH1 et anti VIH2, présents dans le prélèvement. Les complexes immuns formés dessinent des bandes, révélées ensuite par une réaction immuno-enzymatique.

Le résultat obtenu : la combinaison et l'intensité des bandes, est interprété selon des critères définis au niveau international par l'OMS (Albrecht, 2016).

Les critères de positivité habituellement utilisés sont ceux définis par l'OMS et consistent en la réactivité vis-à-vis d'au moins deux glycoprotéines d'enveloppe, gp41, gp120 ou gp160 (Girard *et al.*, 2011).

**Chapitre 2**  
**Epidémiologie de**  
**l'infection par le VIH**

## Chapitre 2: Epidémiologie de l'infection par le VIH

### 2.1. Epidémiologie dans le monde

#### 2.1.1. Statistiques mondiales sur le VIH en 2017

En 2017 ;

- 36,9 millions de personnes vivaient avec le VIH (PVVIH) dans le monde ;
- 21,7 millions avaient accès à un traitement ;
- 1,8 million de personnes sont devenues nouvellement infectées par le VIH,
- 940 000 de personnes sont décédées d'une maladie liée au Sida.
- 77,3 millions de personnes ont été infectées par le VIH depuis le début de l'épidémie.
- 35,4 millions de personnes décédées de suite de maladies liées au sida depuis le début de l'épidémie (Tableau 2) (ONUSIDA, 2018).

**Tableau 2.** Données mondiale sur le VIH (ONUSIDA, 2018)

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

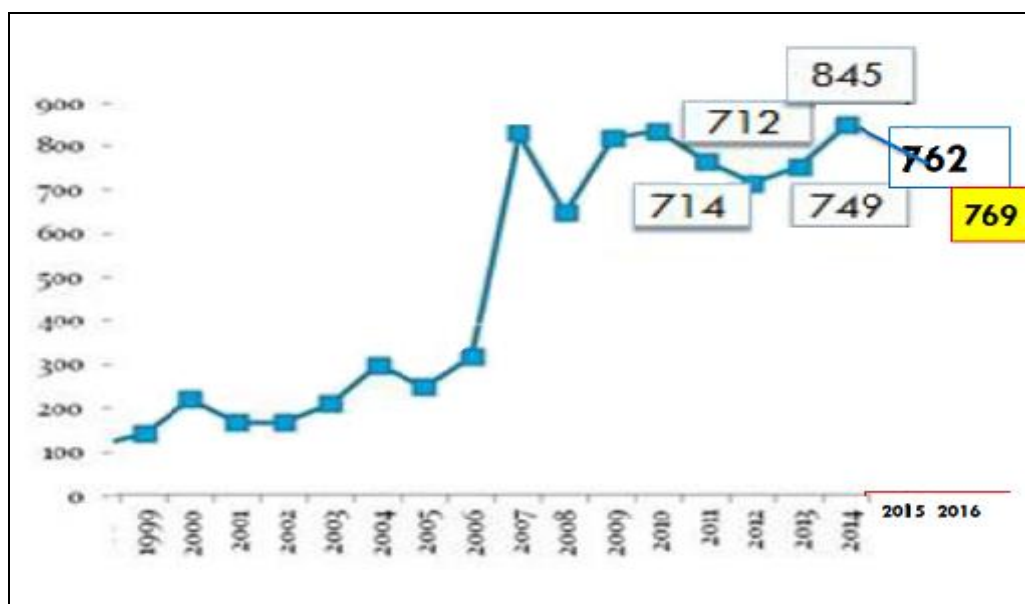
\* en millions

### 2.2. Epidémiologie 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 (Figure 4).

Le mode de transmission n'a pas varié au fil des ans : la transmission hétérosexuelle (> 90 %), essentiellement locale, reste la principale voie par laquelle les personnes contractent le VIH (ONUSIDA, 2017).



**Figure 3.** Nouvelles infections avec le VIH/an (Razik, 2017)

### 2.3. Epidémiologie au niveau de la wilaya de Biskra

Aucune étude statistique n'a été faite sur l'infection du VIH au niveau de la wilaya de Biskra.

# **Partie expérimentale**

# **Chapitre 3**

## **Matériel et méthodes**



## **Chapitre 3: Matériel et méthodes**

### **3.1. Matériel**

#### **3.1.1. Lieu d'étude**

L'étude a été menée au niveau du centre de dépistage volontaire (CDV) situé à El-Alia nord au niveau de la wilaya de Biskra, ce centre est l'un des unités de l'établissement public de santé de proximité.

#### **3.1.2. Présentation du centre**

Le centre a ouvert ses portes en 2008.

Le centre se compose de :

- Une pièce d'accueil et de secrétariat.
- Une salle d'attente.
- Un bureau pour le chef service.
- Un bureau de consultation pour le médecin des maladies infectieuses.
- Un bureau pour le médecin biologiste.
- Une salle de prélèvement.
- Un laboratoire pour le dépistage.
- Un bureau pour le psychologue.

#### **3.1.3. Type et période d'étude**

Il s'agit d'une étude rétrospective, descriptive d'ordre épidémiologique. L'étude sérologique s'est déroulée de Janvier à Mars 2019, et l'étude épidémiologique a porté sur les données épidémiologiques du VIH/SIDA de la période de Janvier 2016 à décembre 2018 au niveau de la wilaya de Biskra.

#### **3.1.4. Population d'étude**

##### **3.1.4.1. Les critères d'inclusion**

Sont inclus dans cette étude tous les patients ayant une sérologie VIH positive (nouvellement diagnostiqués), à au moins deux tests différents disponibles au niveau du centre de dépistage, résidant la wilaya de Biskra.

**3.1.4.2. Critères de non inclusion**

Il s'agit des cas suspects de VIH/SIDA sans confirmation biologique.

**3.1.4. Supports des données**

Les bases de cette étude sont les registres de recensement et les dossiers médicaux des malades.

Les paramètres étudiés sont : le sexe, l'âge, les communes de résidence, l'année de diagnostic.

Les tableaux et les graphiques ont été faits à partir du logiciel Excel 2007.

**3.1.5. Les aspects éthiques**

L'accord du directeur de la santé et de la population de la wilaya de Biskra, le chef service de la prévention et médecine préventive au niveau de la direction de santé, le médecin épidémiologiste et le médecin biologiste a été obtenu pour l'étude.

L'anonymat est strictement respecté.

### 3.2. Méthodes

Le sang doit être prélevé dans des tubes secs, après la décantation sanguine, les échantillons sont défibrinés et centrifugés à 800-1600 tours pendant 20 minutes, le sérum obtenu est ensuite transféré dans des autres tubes secs étiquetés, et le volume de sérum requis est de 02 ml au minimum.

Les sérums sont conservés soit au réfrigérateur (2 à 8°C) jusqu'à cinq jours, et ils restent stables pendant deux mois en étant congelés à (-20°C).

#### 3.2.1. Test de dépistage

##### 3.2.1.1. Technique ELISA

Une plaque de 96 puits (alvéoles) est généralement utilisée pour tester un grand nombre d'échantillons simultanément, au fond de ces puits des antigènes viraux sont fixés, ici des protéines de la capsid du VIH.

Pour ce dépistage, le Kit de test HIV1/HIV2 utilisé était «ADVANCED» (Figure 4).



**Figure 4.** Kit de diagnostic pour VIH (ELISA)

Il faut suivre strictement le protocole proposé.

1. 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 (Figure 5).



**Figure 5.** Préparation de la microplaque.

2. Ajouter 50  $\mu$ l d'échantillon, de contrôle négatif et de contrôle positif à chaque puits approprié (Figure 6) et réserver un puits pour le blanc.



**Figure 6.** Distribution de l'échantillon.

3. Couvrir d'un film autocollant en appuyant bien sur les bords pour assurer l'étanchéité (Figure 7).



**Figure 7.** La microplaque couverte.

4. Incuber la microplaque dans un incubateur sec de microplaques pendant 60 minutes à 37°C (Figure 8).



**Figure 8.** Incubation de la microplaque.

5. Retirer le film adhésif, laver la plaque à l'aide du laveur automatique de microplaques jusqu'à 5 fois (Figure 9).

Un lavage des puits est nécessaire pour enlever les anticorps non fixés.

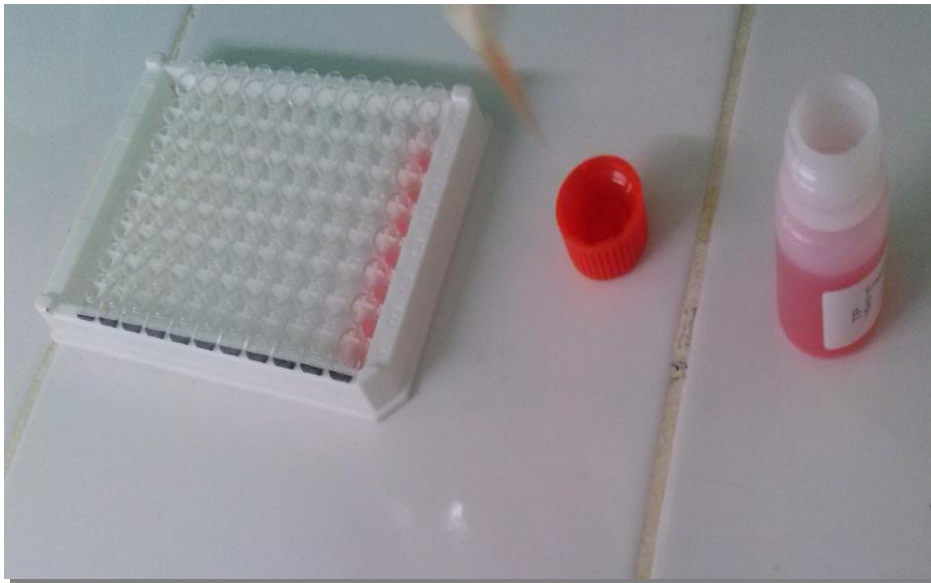


**Figure 9.** Lavage de la microplaque

6. Distribuer 100µl de conjugué dans toutes les cupules. Le conjugué doit être agité avant l'emploi (Figure 10),

Le conjugué est un anticorps secondaire couplé à une peroxydase ;

L'anticorps secondaire est un anti IgG qui va reconnaître l'anticorps primaire.



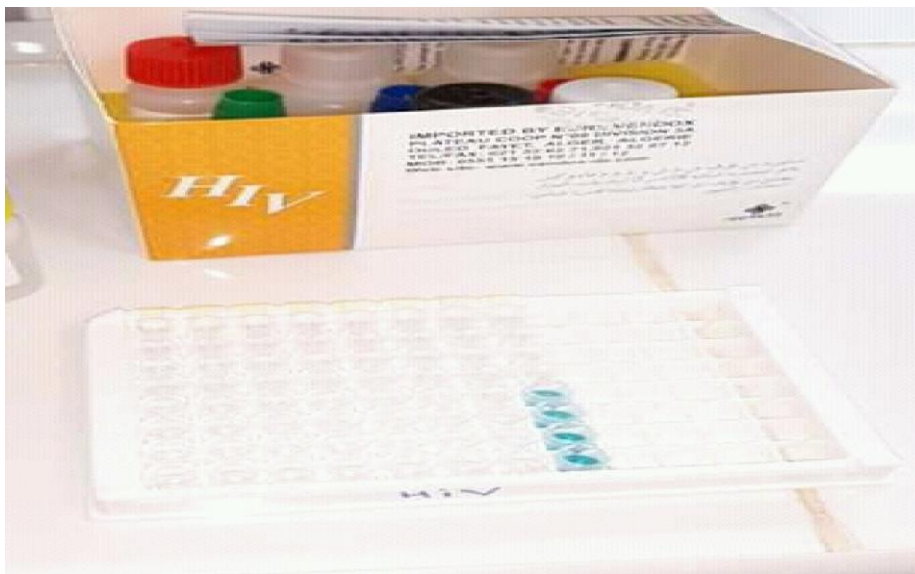
**Figure 10.** Distribution du conjugué

7. Recouvrir d'un film autocollant neuf et incuber 30 minutes à 37°C

8. Retirer le film adhésif ; laver 5 fois à l'aide du laveur automatique (Un lavage des puits est nécessaire pour enlever les anticorps secondaires non fixés).

9. Ajouter 50µl du substrat A et 50µl du substrat B (Figure 11)

Le substrat est spécifique à l'enzyme qui, si la réaction est positive (présence de l'anticorps recherché), va être transformé et induire une coloration bleue.



**Figure 11.** Addition du substrat.

10. Incuber la plaque 30 minute à 37°C

11. Ajouter 100µl de la solution d'arrêt dans les cupules (Figure 12).



**Figure 12.** Ajout de la solution d'arrêt.



12. Lire la densité optique à 450 nm à l'aide d'un lecteur de plaques (Figure 13).



**Figure 13.** Lecture de la microplaque.

#### 3.2.1.2. Test rapide (TROD)



**Figure 14.** Test de diagnostic rapide du VIH format cassette.

1. Laissez le test, l'échantillon, le tampon atteindre la température ambiante avant la réalisation du test.
2. Retirez la cassette de test de la pochette scellée, puis la placez sur une surface propre et plane (Figure 14).
3. Tenir le compte goutte verticalement et transférer une goutte de sérum (environ 25  $\mu$ l) dans la zone de l'échantillon.
4. Ajouter 1 goutte de tampon (environ 40  $\mu$ l) et démarrer la minuterie.
5. Attendez que la ou les lignes colorées apparaissent, lire les résultats à 10 minute, ne pas interpréter le résultat après 20 minute.

### **3.2.2. Test de confirmation**

Durant la période de notre étude, le test de confirmation se fait par un 2<sup>ème</sup> prélèvement avec la technique ELISA mais avec un méthode différent (Kit BIO-RAD) de la première méthode (Kit ADVANCED) (Voire annexe 2).

# **Chapitre 4**

## **Résultats et discussions**

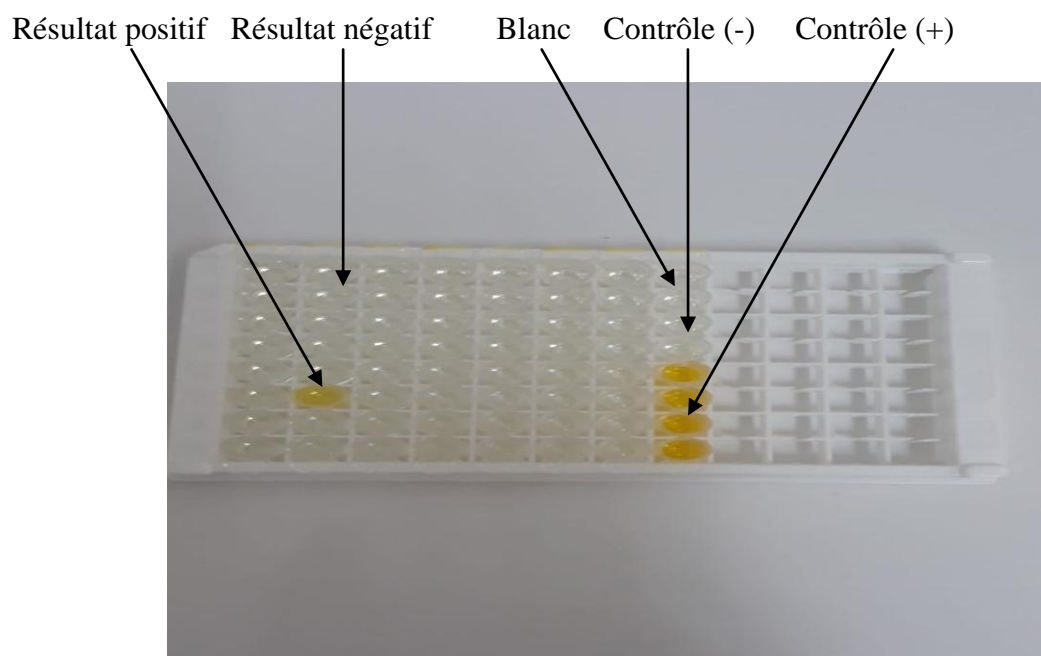
## Chapitre 4: Résultats et discussions

### 4.1. Résultats

#### 4.1.1. Résultats de l'étude sérologique

##### 4.1.1.1. ELISA

L'intensité de la coloration (Figure 15) est proportionnel à la quantité d'enzyme présente et donc à la concentration d'anticorps recherchés (Ac Anti-VIH) ; 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.



**Figure 15.** Résultat du test ELISA.

#### Calcul de la valeur Cut-off

$$\text{Cut-off} = 0,1 + \text{NC}_x$$

$$\text{NC}_x = (\text{NC1} + \text{NC2}) / 2$$

$\text{NC}_x$  : absorbance moyenne de contrôle négatif

NC1 : absorbance de contrôle négatif 1

NC2 : absorbance de contrôle négatif 2

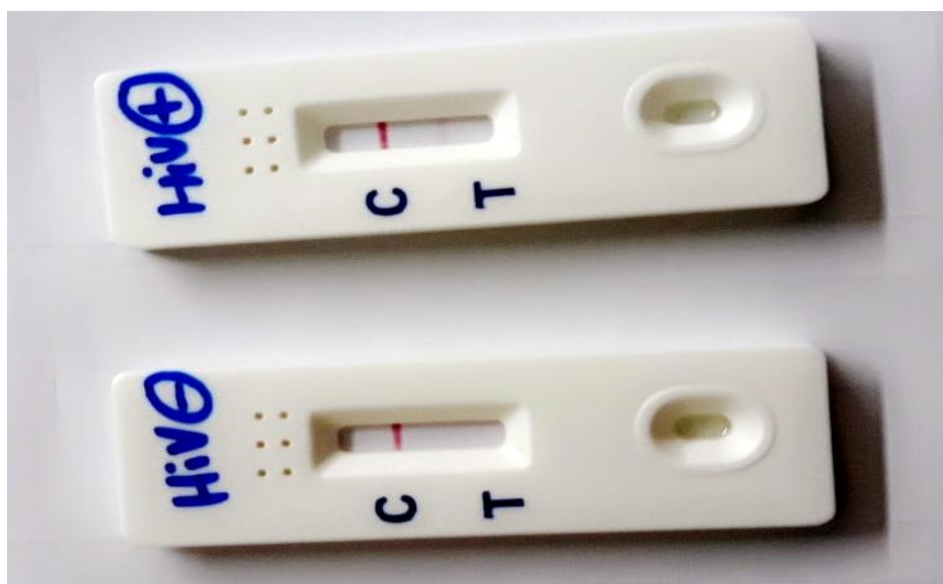
### Interprétation du résultat

-Les échantillons dont l'absorbance est inférieure à la valeur de Cut-off sont considérés comme négatifs.

-Les échantillons dont les valeurs d'absorbance sont supérieures ou égales à la valeur de Cut-off sont considérés comme initialement positifs.

-Les échantillons trouvés initialement positifs doivent être soumis à un nouveau test (test TROD) avec l'échantillon d'origine.

#### 4.1.1.2. Test TROD



**Figure 16.** Résultat de test TROD.

### Interprétation du résultat

**-Résultat positif :** deux lignes colorées distinctes apparaissent. Une ligne doit toujours être visible dans la zone de contrôle (C) et une ligne colorée doit apparaître dans la zone de test(T).

-Intensité de la coloration dans la zone de test (T) dépend de la concentration d'anticorps dirigées contre le HIV présente dans l'échantillon, par conséquent, toute apparition d'une

ligne colorée, aussi claire soit-elle, dans cette zone doit toujours être interprétée comme un résultat positif.

**Résultat négatif** : une seule ligne colorée apparaît dans la zone de contrôle (C), aucune ligne n'est visible dans la zone de test (T) (Figure 16).

#### 4.1.2. Résultats de l'étude épidémiologique

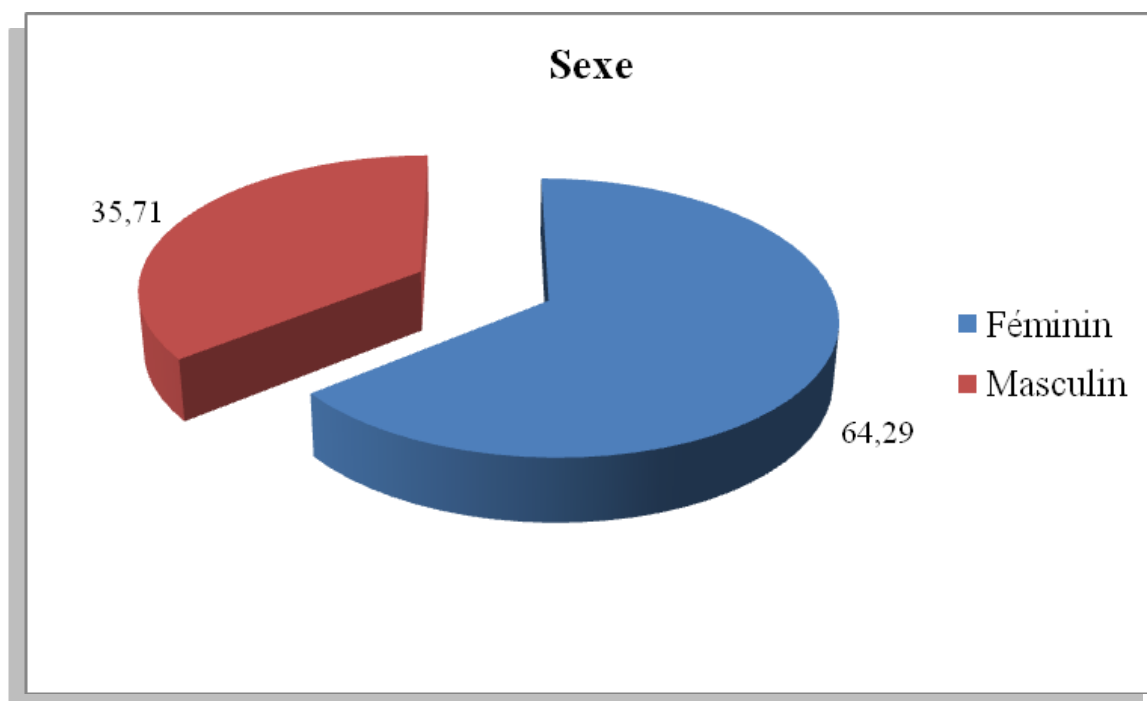
Pendant la période d'étude 28 patients répondaient à nos critères d'inclusion.

Les résultats obtenus après l'analyse des différents paramètres sont présentés dans les tableaux et les graphes suivants :

##### 4.1.2.1. Répartition selon le sexe

Les femmes représentaient 64,29% des patients contre 35,71% d'hommes (Figure 17).

La sex-ratio F/M est de 1,8.



**Figure 17.** Répartition des personnes nouvellement infectés avec le VIH selon le sexe

#### 4.1.2.2. Répartition selon l'âge

La tranche d'âge de 20 à 44 ans était la plus représentée avec 85,71% (Tableau 3).

**Tableau 3.** Répartition des personnes nouvellement infectés avec le VIH selon l'âge.

Tranche d'âge (ans)	Effectif	Pourcentage(%)
>10	01	3,57
10-19	00	00
20-44	24	85,71
45-65	03	10,71
<65	00	00
Total	28	100

#### 4.1.2.3. Répartition selon les communes de résidence

Les habitants de la commune de Biskra sont constitués 53,57% des cas (Tableau 5).

**Tableau 4.** Répartition des personnes nouvellement infectés selon les communes de résidence

Communes	Effectif	Pourcentage(%)
Biskra	15	53,57
Z.Oued	02	7,14
Mekhadma	01	3,57
Mlili	02	7,14
Tolga	05	17,86
Bouchagroun	01	3,57
Foughala	01	3,57
O. Djellal	01	3,57
Total	28	100



**4.1.2.4. Répartition selon l'année de diagnostic****Tableau 5.** Répartition des personnes nouvellement infectés selon l'année de diagnostic

Année	Effectif	Pourcentage
2016	08	28,57
2017	14	50
2018	06	21,43
Total	28	100

## 4.2. Discussion

Sur une période de trois ans, nous avons effectué une étude rétrospective descriptive au niveau de centre de dépistage volontaire afin de déterminer les caractéristiques épidémiologique de l'infection à VIH/SIDA au niveau de la wilaya de Biskra.

Les tests fréquemment rencontrés au cours de notre étude étaient : ELISA avec le kit ADVANCED et BIO-RAD et le test TROD (King diagnostics).

### Répartition selon le sexe

Le nombre des femmes nouvellement atteints de VIH dans notre série représentait 64,29% des cas, tandis que la part des hommes représentait 35,71%. Selon l'ONUSIDA (2017), ces chiffres ne sont pas concordants avec ceux que publiés en Algérie (390 hommes et 379 femme). La fréquence élevée chez les femmes pouvait se traduire par la sexualité précoce, elle serait probablement en rapport avec la vulnérabilité socio-économique (pauvreté et sous-emploi) et anatomique de la femme (réceptivité de la femme, fragilité de la muqueuse vaginale).

En Afrique subsaharienne, les femmes représentant plus de la moitié des personnes infectées avec le VIH (ONUSIDA, 2010).

En France, parmi les découvertes de séropositivité VIH en 2004, la proportion d'hommes est de 59 %. Cette proportion est passée de 58 % à 62 % entre 2003 et 2005 (institut de veille sanitaire, 2006).

En Belgique, La proportion d'hommes parmi les personnes découvrant leur séropositivité était de 71 % en 2016 (Institut scientifique de Santé publique, 2017).

Cette prédominance masculine en Europe est expliquée principalement par l'importance du mode de contamination homosexuel.

### Répartition selon l'âge

La tranche d'âge la plus touchée dans notre série était la tranche d'adulte entre 20 et 44 ans (85,71%), suivie par celle de 45 à 65 ans (10,71%). Selon la Direction générale de la prévention et de la promotion de la santé (2015) Nos résultats sont en accord avec ceux que rapportés, qui affirme que les tranches les plus touchées en Algérie entre 1985 et 2014 étaient

celles de groupe des 25 à 39 et les groupes des 20 à 24. Cette prédominance d'adulte jeunes semble être en rapport avec leur vie sexuelle active et la tranche d'âge la plus mature.

En France, L'âge moyen au diagnostic d'infection à VIH en 2004 est de 37 ans pour l'ensemble des cas. Les femmes sont plus jeunes que les hommes (âge moyen 34 ans vers 39 ans) et la distribution par âge diffère selon le sexe. La proportion des moins de 30 ans est plus importante chez les femmes et celle des plus de 40 ans est plus élevée chez les hommes (institut de veille sanitaire, 2006).

En Belgique, les personnes de 25 à 49 ans représentaient 70 % des diagnostics de séropositivité en 2016, 21 % étaient âgées de 50 ans et plus, 9 % de 15 à 24 ans et moins de 1 % de moins de 15 ans (Institut scientifique de Santé publique, 2017).

#### **Répartition selon la commune de résidence**

Dans notre étude 53,57% des cas nouvellement diagnostiqué séropositif à l'infection du VIH résidaient la commune de Biskra, Cela se traduit par une forte densité de population par rapport aux autres commune, et que La distance entre le centre de dépistage et le reste des communes présente une difficulté principale de la population.

#### **Répartition selon l'année de diagnostic**

Le nombre des personnes nouvellement infectés dans notre série varie d'une année à l'autre et n'est pas stable.

Selon les données de l'ONUSIDA (2018), le nombre des personnes nouvellement infectés diminue régulièrement.

# **Conclusion**

## Conclusion

Notre étude épidémiologique, de type descriptif à collecte rétrospective du 01 Janvier 2016 au 31 Décembre 2018 au niveau du centre de dépistage volontaire (CDV) de la wilaya de Biskra, avait pour but de faire ressortir les caractéristiques épidémiologiques du VIH/SIDA dans cette zone.

Cette étude nous a permis d'aboutir aux conclusions suivantes :

- Les deux sexes ont été concernés par l'infection avec une prédominance féminine 64,29 % contre 35,71 % de sexe masculin.
- La tranche d'âge 20-44 ans a été la plus touchée avec 85,71%.
- La majorité des patients avait résidé la commune de Biskra soit 53,57%.

Compte tenu de nos résultats obtenus et dans la perspective de l'étude séro-épidémiologique de l'infection à VIH/SIDA au niveau de la wilaya de Biskra, on propose que la prochaine étude sur ce sujet est le suivi virologique des patients par la mesure du CV (charge virale) et le contage des CD4 (étude thérapeutique).

La CV est un indicateur irremplaçable de l'efficacité des traitements (ARV).

# **Bibliographie**

---

### Bibliographie

1. Albrecht J.F. 2016. Mise en place des autotests de dépistage du virus de l'immunodéficience humaine : de la formation aux premières dispensations. Thèse de doctorat en Pharmacie, Université de Lorraine, 145 p.
2. Bennai G., Belebad H., Fakh T. 2015. Infections opportunistes sur VIH. Thèse de Doctorat en médecine, Université Abou Bekr Belkaïd, Algérie, 88 p.
3. Bouchagra T. 1995. SIDA réalité et espoir. Edition Dahlab, Algérie, p. 33.
4. Camara M. 2009. Aspects épidémiologiques, cliniques et thérapeutiques du VIH/SIDA au centre de santé de référence de Kita. Thèse de Doctorat en médecine, Université de Bamako, Mali, 88p.
5. DGPPS. 2013. Plan national stratégique de lutte contre les IST/VIH/SIDA. Edition ANDS, p. 13.
6. DGPPS. 2015. Guide national du diagnostic biologique de l'infection à VIH /SIDA. Edition agence national de documentation de la santé, Algérie, p. 11,17.
7. Gayraud M. et Lortholary O. 2010. Soins infirmiers aux personnes atteintes de maladies infectieuses et aux personnes atteintes de l'infection par le VIH. 2<sup>ème</sup> Edition, Masson, p. 156.
8. Girard P.M., Katlama C.H., Pialoux G. 2011. VIH 2011. Edition Doin, Paris, p. 839.
9. Grosjean J., Clavé D., Archambaud M., Pasquier C. 2016. Bactériologie et virologie pratique. Edition De Boeck, pp. 285, 287.
10. Hidreau P. 2006. L'épidémie du VIH/SIDA et sa situation dans un pays en voie de développement : le Bénin. Thèse de doctorat en pharmacie, Université de Nantes, Bénin, 102p.
11. Hugard L. 2008. Infectiologie, sida et soins infirmiers. Edition Wolters Kluwer, France, pp. 190-191.
12. Institut de veille sanitaire .2016. Découvertes de séropositivité VIH et de sida Point épidémiologique, pp. 2- 3. Disponible sur le site : [www.invs.sante.fr](http://www.invs.sante.fr)

- 
- 13.** Institut de veille sanitaire. 2006. Surveillance du VIH / sida en France, pp. 4- 5.  
Disponible sur le site : [www.invs.sante.fr](http://www.invs.sante.fr)
- 14.** Institut scientifique de Santé publique.2017. Épidémiologie du SIDA et de l'infection à VIH en Belgique. Edition WIV-ISP, p 14.
- 15.** Katlama C. et Ghosn J.2008.VIH et SIDA : prise en charge et suivi du patient. 2<sup>ème</sup> édition, Elsevier Masson, pp. 3-4.
- 16.** 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, 240 p.
- 17.** Kinugawa K., Planquette B., Roupret M., Rousseau M., Rose E., Skurnik D., Soria A. 2010. Processus inflammatoires et infectieux. Edition Elsevier Masson, p. 11.
- 18.** Lafon-Desmurs B. 2014. Le dépistage de l'infection par le VIH : étude des pratiques des médecins généralistes en Martinique. Thèse de doctorat en medecine, Université Pierre et Marie Curie, Paris, 146 p.
- 19.** Leghmari K. 2008. La protéine Tat du VIH induit la production de L'IL-10 et du TNF-alpha dans le monocyte/macrophage humain: Etude des mécanismes d'activation de la voie NF-Kappa B. Thèse de doctorat en immunologie. Université de Toulouse, 183 p.
- 20.** Mahdjoub A.1992. Le SIDA et ses incidences en droit pénal Algérien. Edition Elchihab, Algérie, p 44.
- 21.** Marchandot A. 2011. Le virus de l'immunodéficience humaine et ses traitements : Evaluation des connaissances des pharmaciens d'Officines de Lorraine. Thèse de doctorat en pharmacie, Université Henri Poincare- Nancy, 135 p.
- 22.** Marseille M. 2018. La prévention et le dépistage de l'infection par le VIH à l'Officine« PrEP »et autotests. Thèse de doctorat en pharmacie, Université de Marseille, 154 p.
- 23.** Noutsu K. 2004.Etude épidémiologique, clinique et économique du VIH/SIDA dans le service des maladies infectueuses de l'Hôpital du Point G. A propos de 71 cas. Thèse de doctorat en médecine, université de Bamako, Mali ,60 p



- 
- 24.** OMS.2003. VIH/SIDA Surveillance Epidémiologique Mise à jour pour la Région Afrique de l'OMS 2002.Edition Organisation mondiale de la Santé, Bureau régional pour l'Afrique, Imprimé en France, p. 18.
- 25.** ONUSIDA. 2010. Regard sur l'épidémie du VIH dans les pays Francophone. p 2.  
Disponible sur le site : [www.unaids.org](http://www.unaids.org)
- 26.** ONUSIDA. 2014. Rapport d'activité sur la riposte nationale au VIH/SIDA- Algérie.  
Edition agence national de documentation de la santé, Algérie, p. 7.
- 27.** ONUSIDA .2017. Fiche d'information 2016. Statistiques mondiales. Disponible sur le site : [www.unaids.org](http://www.unaids.org)
- 28.** ONUSIDA.2017.Rapport narratif de la riposte nationale au VIH/SIDA. Disponible sur le site : [www.unaids.org](http://www.unaids.org)
- 29.** ONUSIDA. 2018. Journée mondiale du SIDA 2018, statistiques mondiales sur le VIH en 2017. Disponible sur le site : [www.unaids.org](http://www.unaids.org)
- 30.** Ouedraogo H.W. 2004.Evaluation des performances de sept tests de dépistage du VIH utilisées au CNTS de Bamako. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Bamako, 96 p.
- 31.** 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.
- 32.** Sagara M. 2014. Fréquence du VIH/SIDA en milieu chirurgical de Bamako : cas de service de chirurgie générale. Thèse de doctorat en médecine, Mali, 90 p.
- 33.** Stanley M et Beare P.G.2005. Soins infirmiers en gériatrie ; vieillissement normal et pathologique. Edition De Boeck, p. 322.
- 34.** Veron M. et Pebret F.1996. Pathologie infectieuse et démarche de soins VIH-SIDA. Edition Heure de France, p. 67.
- 35.** Volberding P.A., Greene W.C., Lange J.M., Gallant J.E., Sewankambo N. 2012. Sande's HIV/AIDS medecine : Medical management of AIDS 2013. Edition Elsevier, Chine, p. 6.

# **Annexes**

## Annexe 1. Classification de l'infection par le VIH.

**Classifications de l'infection par le VIH****Classification OMS****Stade 1**

- Patient asymptomatique.
- Adénopathies persistantes généralisées.

**Stade 2**

- Perte de poids modérée, inexpliquée, inférieure à 10 % du poids corporel.
- Manifestations cutanéomuqueuses mineures (dermite séborrhéique, ulcérations buccales récurrentes, chéilite angulaire, éruptions papulaires pruritiques).
- Zona.
- Infections récidivantes des voies aériennes supérieures (pharyngite, otite, bronchite, sinusite).

**Stade 3**

- Manifestations pour lesquelles un diagnostic de présomption peut être fait sur la base des signes cliniques ou de simples investigations :
  - perte de poids sévère, supérieure à 10 % du poids corporel;
  - diarrhée chronique inexpliquée > 1 mois;
  - fièvre prolongée inexpliquée > 1 mois (intermittente ou constante);
  - candidose buccale;
  - leucoplasie chevelue buccale;
  - tuberculose pulmonaire dans les deux années précédentes;
  - infections bactériennes présumées sévères (pneumopathies, méningites, infections osseuses ou articulaires, bactériémies...);
  - stomatite ulcéreuse nécrosante aiguë.
- Manifestations pour lesquelles une confirmation par des tests de diagnostic est nécessaire :
  - anémie inexpliquée (hémoglobine < 8 g/dL);
  - neutropénie (neutrophiles < 500/μL);
  - thrombocytopénie (plaquettes < 50000/μL).

**Stade clinique 4**

- Manifestations pour lesquelles un diagnostic de présomption peut être fait sur la base des signes cliniques ou par de simples investigations :
- angiomatose bacillaire;
- candidose persistante oropharyngée ou vaginale;
- dysplasie modérée ou sévère du col utérin;
- carcinome *In situ*;
- hyperthermie (38,5 °C) ou diarrhée > 4 semaines;
- leucoplasie chevelue linguale;
- zona récurrent ou envahissant plus de un dermatome;
- purpura thrombocytopénique idiopathique;
- listériose;
- neuropathie périphérique.

**Stade C (= stade clinique 4 de l'OMS)**

Stade du sida, c'est à dire phase symptomatique chez un sujet ayant présenté l'une au moins des manifestations majeures suivantes (infections opportunistes ou tumorales) :

- candidose trachéale, bronchique, pulmonaire, œsophagienne ou extrapulmonaire;
- cryptococcose extrapulmonaire;
- pneumonie à *Pneumocystis carinii*;
- toxoplasmose cérébrale;
- infection à CMV autre qu'hépatique, splénique ou ganglionnaire;
- rétinite à CMV;

- *Pneumocystis carinii*;
- pneumonie bactérienne récurrente sévère ou radiologique;
- cryptococcose extrapulmonaire;
- candidose œsophagienne;
- infections à virus *herpes simplex* chroniques;
- tuberculose extrapulmonaire;
- sarcome de Kaposi;
- toxoplasmose du système nerveux central;
- encéphalopathie VIH.

- Manifestations pour lesquelles une confirmation par des tests de diagnostic est nécessaire :
  - infections à mycobactéries disséminées non tuberculeuses;
  - leucoencéphalopathie multifocale progressive;
  - candidose trachéenne, bronchique ou pulmonaire;
  - cryptosporidiose;
  - isosporiasis;
  - infections virales viscérales à VHS et infections à cytomégalo virus (rétinienne ou autres telles que hépatique, splénique ou lymphoïde);
  - toute mycose disséminée (histoplasmose, coccidioidomycose, penicilliose);
  - septicémie récurrente à salmonelles non typhoïdienne;
  - lymphomes (cérébral ou non hodgkinien à cellules B);
  - carcinome cervical invasif;
  - leishmaniose viscérale.

**Classification CDC****Stade A**

- Primo-infection symptomatique ou asymptomatique se manifestant dans les 2 à 8 semaines après la contamination.
- Infection chronique latente cliniquement et active biologiquement durant plusieurs années.
- Lymphodénopathie persistante généralisée.

**Stade B (= stades cliniques 2 et 3 de l'OMS)**

Phase symptomatique associant au moins une des manifestations mineures suivantes :

- encéphalopathie due au VIH;
- infection herpétique (ulcère > 1 mois, ou bronchopulmonaire ou œsophagienne);
- infection à *Mycobacterium tuberculosis* pulmonaire ou extrapulmonaire;
- infection à mycobactérie identifiée ou non, disséminée ou extrapulmonaire;
- infection à *Mycobacterium avium* ou *Mycobacterium kansasii*, disséminée ou extrapulmonaire;
- pneumopathie bactérienne récurrente;
- septicémie à salmonelloses non typique récurrente;
- cryptosporidiose intestinale > 1 mois;
- isosporose intestinale chronique > 1 mois;
- leucoencéphalopathie multifocale progressive;
- coccidioidomycose disséminée ou extrapulmonaire;
- histoplasmose disséminée ou extrapulmonaire;
- sarcome de Kaposi;
- lymphome de Burkitt;
- lymphome immunoblastique;
- lymphome cérébral primaire;
- cancer invasif du col;
- syndrome cachectique dû au VIH.

---

**Annexe 2. Fiche technique de kit BIO-RAD (ELISA)****7.3. Assay Procedure**

Strictly follow the proposed procedure.

Use the negative (R3), HIV-1 Ab positive (R4) and HIV Ag positive (R5) controls for each series of determinations in order to validate the test quality.

Follow the following Good Laboratory Practice:

1. Carefully establish the sample distribution and identification plan.
2. Prepare the diluted washing solution R2 and the conjugate 2 working solution (R7a + R7b) (refer to 7.2).
3. Take out from the protective packing the support frame and the necessary number of strips (R1). Put the unused strips back in their packing. Close the packing and replace it at +2-8°C.
4. Distribute in the well in the following order, without prior washing of the plate (advisable plate distribution):
  - 25 µl of conjugate 1 (R6) in each well
  - 75 µl of HIV Ag positive control (R5) in well A1
  - 75 µl of HIV Ab positive control (R4) in well B1,
  - 75 µl of negative control (R3) in well C1, D1 and E1
  - 75 µl of specimen 1 in well F1
  - 75 µl of specimen 2 in well G1, etc.

Homogenize the mixture by a minimum of 3 aspirations with 75 µl pipette or with a microplate shaker for 5 seconds. The sample distribution must begin immediately after the conjugate 1 distribution. If the sample distribution takes over 30 min, it is recommended to distribute the negative and positive controls after the samples that are to be tested.

Depending on the used system, it's possible to modify the position of controls or the order of distribution.

*REMARK: After the samples distribution, the well containing conjugate 1 turns yellow-green to blue. It is possible to verify the presence of the (sample + conjugate 1) in the wells by spectrophotometric reading at 620 nm (refer to §7.7).*

5. When possible, cover the microplate with adhesive film. Press firmly all over the plate to ensure a tight seal.
6. Incubate the microplate in a thermostat-controlled water-bath or microplate incubator at 37°C ± 1°C for 1 hour ± 4 minutes.
7. If necessary, remove the adhesive film. Aspirate the contents of all wells into a container for biohazardous waste (containing sodium hypochlorite). Add into each well a minimum of 0.370 ml of washing solution. Allow a soak time of at least 30 seconds. Aspirate again. Repeat this procedure a minimum of two times (i.e. in total of a minimum of three washes). The residual volume must be lower than 10 µl (if necessary dry the plate by turning it upside down on absorbent paper). If an automatic washer is used, follow the same procedure
8. Quickly dispense 100 µl of conjugate 2 (R7a + R7b) into each well within the plate. The conjugate must be shaken gently before use. Cover, if it's possible, with a new adhesive film and incubate for 30 minutes (± 4 min) at room temperature (18-30°C).

*REMARK: The conjugate 2 is coloured red. It is possible to verify the presence of conjugate 2 in the wells by spectrophotometric reading at 620 nm (refer to §7.7).*

9. If necessary, remove the adhesive film, empty all the wells by aspiration and wash a minimum of 5 times as described above.
- 10 Prepare the enzymatic development solution (reagent R8 + R9).
- 11 Quickly distribute 80 µl of prepared enzymatic development solution (R8 + R9) in all the wells. Allow the reaction to develop in the dark for 30 minutes (± 4 min) at room temperature (18 - 30°C). Do not use adhesive film during this incubation.

*REMARK: The distribution of the development solution, which is coloured pink, can be visually controlled at this step of the manipulation. There is a clear difference of colouration between empty well and a well containing the pink substrate solution. (refer to §7.7).*

- 12 Add 100 µl of the stopping solution (R10) using the same sequence and rate of distribution as for the development solution.

*REMARK: Distribution of the colourless stopping solution can be visually controlled at this handling stage.*

*The substrate colour, pink (for negative samples) or blue (for positive samples), fades from the wells, which become colourless (for negative samples) or yellow (for positive samples) after adding stopping solution.*

- 13 Carefully wipe each plate bottom. Wait at least 4 minutes after stopping solution addition and within 30 minutes of stopping the reaction, read the optical density at 450/620-700 nm using a plate reader.
- 14 Check for agreement between the spectrophotometric and visual readings and against the plate and sample distribution and identification plan.

#### 7.4. Quality control

Use positive and negative controls in each run of series to validate the assay. (Refer to §7.5).

#### 7.5. Test Validation criteria

This test is validated if the conditions below are respected:

##### 1. For the negative control R3

The absorbance of each negative control (R3) should be less than 0.170:

$$OD R3 < 0.170$$

The mean of the absorbance of the negative controls (R3) should be less than 0.150:

$$OD R3 < 0.150$$

If one of the negative controls R3 does not respect this norm, disregard the value and recalculate the mean using the two remaining values.

##### 2. For the HIV antibodies positive control R4

The absorbance of the HIV Ab positive control (R4) should be greater than 0.9:  $OD R4 > 0.9$

##### 3. For the HIV antigens positive control R5

The absorbance of the HIV Ag positive control (R5) should be greater than 0.9:  $OD R5 > 0.9$

#### 7.6. Calculation/Interpretation of results

The cut-off is determined with the R3 negative control:

Calculate the mean measured absorbance value for the negative control R3.

$$OD R3 = \frac{OD (C1) + OD (D1) + OD (E1)}{3}$$

Calculate the cut-off value:

$$CO = OD R3 + 0.200$$

The presence or absence of detectable HIV Antigen or antibodies to HIV-1 and/or HIV-2 is determined by comparing the absorbance measured for each sample to the calculated cut-off value.

The following ratio is calculated for each sample:

$$\text{Ratio} = \text{OD of the sample} / \text{CO Value}$$

Samples with an optical density lower than the cut-off value are considered to be negative (ratio < 1) by the Genscreen™ ULTRA HIV Ag-Ab.

Results just below the cut-off value ( $CO - 10\% < O.D. < CO$ ) should however, be interpreted with caution. It is advisable to retest in duplicate the corresponding samples when the systems and laboratory procedures permit.

Samples with an optical density greater or equal to the cut-off (ratio  $\geq 1$ ) are considered to be initially positive by the Genscreen™ ULTRA HIV Ag-Ab. They should be retested in duplicate before final interpretation.

If after retesting the ratio value of at least one of the 2 duplicates is equal to or greater than 1, the initial result is repeatable and the sample is declared to be positive with the Genscreen™ ULTRA HIV Ag-Ab. The ratio value of the 2 duplicates are less than 1, the initial results is non-repeatable and the sample is declared to be negative.

Non repeatable reactions are often caused by:

- Inadequate microplate washing,
- Contamination of negative samples by serum or plasma with a high antibody titre,
- Contamination of the substrate solution by oxidizing agents (bleach, metal ions, etc...),
- Contamination of the stopping solution.

The samples which have been retested twice and found negative with Genscreen™ ULTRA HIV Ab-Ag, but with one value near the cut-off value (ratio between 0.9 and 1) should be considered with care. It is advised to retest the patient with another method or another sample.

In case of very low optical density for tested samples (negative O.D.) and when the presence of samples as well as of reagent is controlled, the results can be interpreted as negative.

It is recommended to confirm the positive samples following the current national recommendations and algorithms.

#### **7.7. Spectrophotometric verification of sample and conjugate pipetting (optional)**

##### **Sample and Conjugate 1 (R6) pipetting verification**

It is possible to verify the simultaneous presence of the conjugate 1 (R6) and the samples into the well can be verified by automatic reading at 620 nm.

Each well containing sample and conjugate 1 (R6) must have an O.D. greater than 0.600.

##### **Conjugate 2 working solution pipetting verification**

The presence of conjugate 2 (R7a + R7b) can be verified by automatic reading at 450 / 620 nm. The O.D. value of each well must be greater than 0.100 (a lower OD indicates a poor dispensing of the conjugate 2).

##### **Development solution pipetting verification**

It is possible to verify the presence of pink development solution into the well by automatic reading at 490 nm.

A well with development solution must have an optical density greater than 0.100 (a lower OD indicates a poor dispensing of the development solution).

## ملخص

تعتبر الإصابة بفيروس نقص المناعة البشرية مشكلة للصحة العمومية. أجريت دراسة وبائية و مصلية عن الإصابة بفيروس نقص المناعة البشرية /الايدز في ولاية بسكرة من جانفي 2016 إلى غاية ديسمبر 2018 . و الهدف هو دراسة الخصائص الوبائية و تحديد تقنيات تشخيص الإصابة بهذا الفيروس على مستوى مركز الكشف الطوعي . 28 مريضا استجاب لمعايير الانتقاء التي تم تحديدها. كما أظهرت نتائج الدراسة هيمنة الإناث ولوحظ أن الشباب البالغ هم الأكثر عرضة لهذه العدوى، معظم المرضى يقيمون في بلدية بسكرة.

**الكلمات المفتاحية:** علم وبائي مصلي، فيروس نقص المناعة البشرية/الايدز، بسكرة.

## Résumé

L'infection par le VIH demeure un problème de santé publique. Une étude séro-épidémiologique de l'infection par le VIH/SIDA a été effectuée au niveau de la wilaya de Biskra sur la période de Janvier 2016 à décembre 2018. Notre étude avait pour objectifs d'étudier les caractéristiques épidémiologiques et d'identifier les techniques de diagnostic de l'infection du VIH/SIDA au niveau de centre de dépistage volontaire. 28 malades répondant à nos critères d'inclusion ont été recensés. Cette étude a montré une prédominance du sexe féminin, les adultes jeunes étaient les plus touchés et La majorité des patients avaient résidés à la commune de Biskra.

**Mots clés :** séro-épidémiologique, VIH/SIDA, Biskra.

## Abstract

HIV infection remains a public health problem. A sero-epidemiological study of the HIV / AIDS infection was carried out at the Biskra wilaya level from January 2016 to December 2018. Our study aimed to study the epidemiological characteristics and identify the diagnostic techniques for HIV / AIDS infection at the voluntary testing center. 28 patients meeting our inclusion criteria were identified. This study showed a predominance of the female sex, young adults were the most affected, most of the patients had resided in Biskra commune.

**Keywords :** sero-epidemiologic, HIV / AIDS, Biskra.