



ROYAUME DU MAROC
Université Mohammed V - Rabat
Faculté de Médecine et de Pharmacie
RABAT



Année : 2022

MS0222022

Mémoire de fin d'études

Pour L'obtention du Diplôme National de
Spécialité en ANALYSES
BIOLOGIQUES MEDICALES

Intitulé :

EVALUATION DU GEENIUS™ HIV 1/2
CONFIRMATORY ASSAY POUR LA CONFIRMATION DE
L'INFECTION A HIV

Présenté par :
Docteur Jalila ZIRAR

Sous la direction de :
Professeure Hakima KABBAJ

Remerciements



NOTRE MAITRE ET ENCADRANT
MADAME LE PROFESSEUR HAKIMA KABBAJ
PROFESSEUR DE MICROBIOLOGIE

Vous avez bien voulu nous confier ce travail riche d'intérêt et nous guider à chaque étape de sa réalisation. Vous nous avez toujours réservé le meilleur accueil, malgré vos obligations professionnelles. Vos encouragements inlassables, votre amabilité, votre gentillesse méritent toute admiration. Nous saisissons cette occasion pour vous exprimer notre profonde gratitude tout en vous témoignant notre respect.

A NOTRE MAITRE
MADAME LE PROFESSEUR MYRIAM SEFFAR
PROFESSEUR DE MICROBIOLOGIE

Pour l'honneur que vous nous faites de nous encadrer dans le service. Votre sérieux, votre compétence et votre sens du devoir nous ont énormément marqués. Veuillez trouver ici l'expression de notre respectueuse considération et notre profonde admiration pour toutes vos qualités scientifiques et humaines. Ce travail est pour nous l'occasion de vous témoigner notre profonde gratitude.

A TOUS NOS MAITRES

Qui nous ont guidés avec bienveillance, sollicitude et compréhension pour l'acquisition du savoir nécessaire à l'exercice de notre profession nous espérons être dignes de leur confiance et à la hauteur de leurs attentes. Veuillez recevoir ici, l'expression de notre dévouement, de notre reconnaissance et de notre grande admiration.

ABREVIATIONS

Ac	: Anticrops
Ag	: Antigène
ALCS	: Association de lutte contre le SIDA.
ADN	: Acide désoxyribonucléique
ARV	: Antirétroviral
AZT	: Zidovudine
ARV	: Antirétroviraux.
ARN	: Acide ribonucléique.
ANAES	: Agence nationale d'accréditation et d'évaluation en santé.
CDC	: Centers for Disease Control.
CD4	: Cluster de différenciation 4.
CRP	: C réactive protéine.
CMV	: Cytomégalovirus.
CV	: Charge virale
EBV	: Epstein-barr virus
ELISA	: Enzyme-linked immune sorbent assay.
Gp	: Glycoprotéine
HPV	: papillomavirus humain
HSV	: Virus Herpes simplex
INH	: Institut national d'hygiène.
IF	: Inhibiteur de fusion
INI	: Inhibiteur de l'intégrase
INNTI	: Inhibiteur non nucléosidique de la transcriptase inverse
INTI	: Inhibiteur nucléosidique de la transcriptase inverse
IP	: Inhibiteur de protéase
IST	: Infection sexuellement transmissible

LCR : Liquide céphalorachidien
LCS : Liquide cerebro-spinale
ONUSIDA : Programme commun des nations unies sur le HIV/SIDA.
OMS : Organisation mondiale de santé.
P : Protéine
PCR : polymerasechainreaction
PNLS : Programme national de lutte contre les IST/sida
PNUD : Programme des Nations Unies pour le Développement
PS : Professionnelle(s) du sexe
PSR : Plan stratégique régional de lutte contre le sida
SIDA : Syndrome d'immunodéficience acquis.
SNC : Système nerveux central
TBK : Tuberculose.
TDRs : Tests rapides de détection
TARV : Traitement antirétroviral
TI : Transcriptase inverse
VHB : Virus de l'hépatite B
VHC : Virus de l'hépatite C
HIV : Virus de l'immunodéficience humaine.
WB : Western Blot

LISTE DES TABLEAUX

Tableau1: Sensibilité des tests WB et Geenius pour chaque bande de protéines virales

Tableau2 : Performances des tests WB et Geenius dans le diagnostic du HIV-1 et HIV-2

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Bandes du Geenius™ HIV 1/2 Confirmatory Assay

Figure 2: Illustration de test de confirmation : Profil Western Blot (Photo LCV)

Figure 3: Illustration de test de Geenius (Photo LCV)

Figure 4: Evaluation de la concordance entre les protéines présentes dans le WB et Geenius

Figure 5: Structure des HIV

Figure 6: Organisation génomique du HIV-1 sous sa forme d'ADN proviral intégré dans le génome cellulaire.

Figure 7: Cycle de réplication HIV

Figure 8: Histoire naturelle du HIV

Figure 9 : Stratégie diagnostique de l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine

Figure 10 : Evolution des marqueurs virologiques au cours de la primo-infection par le HIV

Figure 11 : Evolution de la charge virale plasmatique ARN du virus HIV-1 et du taux de lymphocytes T CD4+ circulants après l'initiation d'un traitement antirétroviral

Figure 12 : Stratégie de diagnostic du HIV au Maroc

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	10
MATERIELS ET METHODES	13
RESULTATS	18
DISCUSSION	21
A. REVUE DE LA LITTERATURE	22
A.1 Historique :	22
A.2 Caractères virologiques :	22
A.3 Evolution épidémiologiques :	27
A.4 Histoire naturelle du HIV :	29
A.5 CLINIQUE :	30
1. Manifestations cliniques :	30
1.1. Manifestations cliniques liés au HIV ;	31
1. 2. Complications :	32
2. Classification clinique selon les critères de l’OMS :	34
A.6 PROFIL BIOLOGIQUE	34
1. Circonstances du dépistage de l’infection par le HIV:	34
2. Prélèvements :	35
3. Méthodes :	35
3.1. Dépistage de l’infection par le HIV :	35
3.2. Confirmation de l’infection par le HIV :	37
3.3. Diagnostic en phase précoce de l’infection :	38
3.4. Suivi de l’infection :	39
3.5. Autres examens :	41
A.7 Attitude thérapeutique :	41
B. DISCUSSION DES RESULTATS :	46
CONCLUSION	49

RESUMES	51
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	55

INTRODUCTION

Le virus de l'immunodéficience humaine (HIV) demeure un problème majeur de santé publique de portée mondiale, qui a entraîné selon les dernières statistiques (juin 2021) près de 34.7 millions de décès au monde depuis le début de l'épidémie selon le programme commun des Nations Unies sur le HIV/SIDA (Onusida). [1]

Au Maroc, la prévalence de l'HIV reste néanmoins faible et stable dans la population générale, autour de 0,08% jusqu'à l'année 2018 selon le ministère de la santé. [2]

Le diagnostic de l'HIV nécessite un hybride de tests de diagnostic conventionnels en laboratoire et de nouvelles technologies pour élargir la couverture, accroître l'accès et avoir un impact positif sur la prise en charge des patients, permettant ainsi la planification, les interventions appropriées et l'allocation de fonds appropriés. [3]

En 2014, le Center for Disease Control and Prevention (CDC) aux États-Unis a publié des algorithmes révisés pour le diagnostic de l'infection par l' HIV dans lesquelles l'utilisation d'un test de différenciation des anticorps du HIV-1 et du HIV-2 est recommandée après un test positif répétable en EIA (enzyme immuno-assay). Le test rapide Multispot TM HIV-1/HIV-2 (BioRad Laboratories) approuvé par la Food and Drug Administration (FDA) a été initialement validé à cette fin. Par la suite, Bio-Rad a développé un nouveau test de confirmation et de différenciation basé sur le principe de l'immunochromatographie, le Geenius™HIV-1/2 Confirmatory Assay. Ce dernier a reçu le marquage CE (communauté européenne) en février 2013 et l'autorisation de la FAD en octobre 2014. [4]

Ainsi il a été approuvé comme test de confirmation, après un test sérologique ELISA de 4ème génération (combinant la détection des Ac anti HIV-1 et -2 (test mixte) et de l'Ag p24 (test combiné)), en remplaçant le test Western Blot dans des nouveaux algorithmes publiés dans plusieurs pays dans le monde (en Israël, États-Unis, Canada et au Japon). [5-6] Il a l'avantage des tests unitaires immunochromatographique avec la possibilité de traitement des échantillons positifs rapidement en s'affranchissant du travail en série du Western-Blot et permet d'obtenir un résultat dans les 30 mn. C' est dans cette optique et afin d'améliorer la prise en charge rapide et l'annonce de la séropositivité aux patients que nous avons mené au sein du laboratoire Central de virologie (LCV) du Centre Hospitalier Universitaire Ibn Sina de Rabat une évaluation de la sensibilité du test Bio-Rad Geenius™ HIV ½ afin d'approuver si ce test est une

alternative appropriée au test HIV Blot 2.2 Western Blot (MP-WB) dans l'algorithme de dépistage de l'HIV dans notre laboratoire.

Matériels et Méthodes

Nous avons mené une étude prospective au LCV du CHU Ibn Sina de Rabat, qui a porté sur 48 cas d'infection à HIV confirmés par le test WB dont 47 patients et 1 EEQ (un échantillon de l'évaluation externe de la qualité du CTCB (Centre Toulousain des Contrôles Biologiques). Les nouveaux nés d'une mère séropositive, les nourrissons de moins de 18 mois, les patients avec les résultats indéterminés et les faux positifs ont été exclus de notre étude.

Tous les échantillons réactifs répétables par le test immunologique de dépistage ELISA 4ème génération, ont été confirmés systématiquement sur le même prélèvement par le Western Blot (MP Diagnostics HIV Blot 2.2) en association à un test Geenius™ (HIV 1/2 Confirmatory Assay de Bio-Rad). Un 2ème échantillon pour confirmation de l'identité du patient a été demandé sur lequel nous avons réalisé un 2ème test sérologique.

Test de dépistage:

Au niveau du LCV, on utilise un test de quatrième génération pour le dépistage des infections par l'HIV. Il s'agit du dosage ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo (Abbott) qui est un dosage immunologique microparticulaire chimiluminescent (CMIA) pour la détection qualitative simultanée de l'antigène p24 et des anticorps anti-HIV de type 1 (HIV-1 groupe M et groupe O) et/ou de type 2 (HIV-2) dans le sérum et le plasma humains.

Tous les échantillons initialement réactifs par le dosage ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo sont systématiquement contrôlés sur le même prélèvement après une 2ème centrifugation à 10.000g. Les valeurs seuil (S/CO) supérieures ou égales à 1,00 sont considérées comme réactives pour l'antigène p24 du HIV-1 et/ou des anticorps anti HIV-1 et/ou HIV-2.

Tests de confirmation :

Le Western Blot (MP Diagnostics HIV Blot 2.2) est un test immunoenzymatique qualitatif, revêtu du marquage CE, et accepté pour la liste OMS des diagnostics in vitro préqualifiés en 2016.

Les bandelettes de nitrocellulose sont sensibilisées par des protéines antigéniques du HIV-1 séparées par électrophorèse. Le peptide de synthèse spécifique au virus HIV-2 est ajouté sur les mêmes bandelettes.

Le coffret est conçu pour travailler les échantillons en série idéalement de six patients pour ne pas avoir de perte de réactif.

Dans chaque série, il y'a deux contrôles positifs (fort et faible) et un contrôle négatif. Pour l'interprétation du test HIV BLOT 2.2 de MP Diagnostics, nous avons adopté les critères définis selon les instructions du fabricant :

- Aucune bande virale spécifique présente ou détection des anticorps p17 (protéine 17) uniquement = Western-Blot négatif.
- Détection de deux bandes ENV (gp (glycoprotéine) 160/gp41 et gp120) et une bande GAG (p17, p24, p55) ou une bande POL (p31, p51, p66) = Western-Blot positif pour l'HIV-1.
- Détection de deux bandes ENV (gp160/gp41 et gp120) et une bande GAG (p17, p24, p55) ou une bande POL (p31, p51, p66) et la bande spécifique HIV-2 = Western-Blot positif pour l'HIV-1 et HIV-2 possible.
- Tout autre résultat ne répondant pas aux critères de positivité ci-dessus, est considéré comme indéterminé.

Le test Geenius™ HIV 1/2 Confirmatory Assay est un examen immunochromatographique destiné à confirmer et différencier les infections à HIV-1 et HIV-2. Il utilise une protéine appelée A qui se lie à des particules d'or colloïdal et forment le conjugué, et des antigènes du virus HIV-1 et HIV-2.

Les lignes roses/violettes n'apparaissent pas dans la zone «test» en cas présence d'Ac anti-HIV. La ligne rose/violette apparaît dans le cas d'un échantillon non réactif, les Ac sont capturés par les antigènes présents dans la zone « test ».

La ligne rose/violette apparaît aussi dans la zone « Control (C) », quel que soit la réactivité de l'échantillon, cette dernière nous montre que l'échantillon et les réactifs ont été déposés correctement et ont migré sur la bandelette.

La lecture des bandes se fait 20 à 30 mn après l'ajout du tampon. Cette lecture peut être visuelle ou automatisée par le lecteur Geenius (Geenius System). Nous avons utilisé le Geenius system pour la lecture automatisée et l'interprétation des résultats.

Critères d'interprétation HIV-1:

- Positif : si 2bandes/4 lignes de test HIV-1 avec au moins une gp160 (4^{ème} bande)/ gp41 (6^{ème} bande)
- Négatif : aucune bande

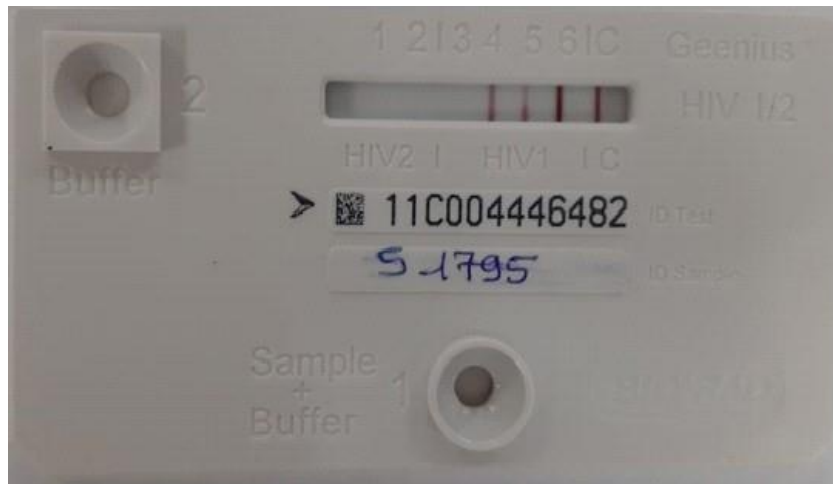


Figure 3: Illustration de test de Geenius (Photo LCV)

Résultats

Parmi les 48 patients inclus dans notre travail ayant une sérologie HIV positive répétable, 47 (98 %) avaient un HIV type 1 et un cas était un HIV type 2.

Parmi les 47 patients HIV 1 positifs, 25 (54%) avaient un profil WB complet (PC), correspondant à une immunoréactivité avec l'ensemble des protéines du HIV-1 référencées dans le kit (kit du MP Diagnostics HIV Blot 2.2); Gp160, Gp120, Gp41, p66, p51, p31, p55, p24 et p17. Tous ces patients étaient aussi confirmés positifs HIV-1 par le test Geenius. Toutefois, 12 (27 %) avaient un profil incomplet en Geenius avec des bandes non réactives : p24 (5 patients), p31 (6 patients) et p24+p31 (1 seul cas) (figure 4).

Le reste des patients (22/47, soit 46%) étaient également confirmés positifs en WB et en Geenius mais avaient des profils incomplets en WB et/ou en Geenius. Ces profils WB incomplet, étaient tous positifs par le test Geenius avec un profil complet chez seulement 4 patients.

Parmi l'ensemble des bandes-protéines positives par WB, p55 manquait dans 40% des cas (19/47), contre 21 % pour p17 (10/47), 15 % pour p51 (7/47), 4% pour p31 (2/47).

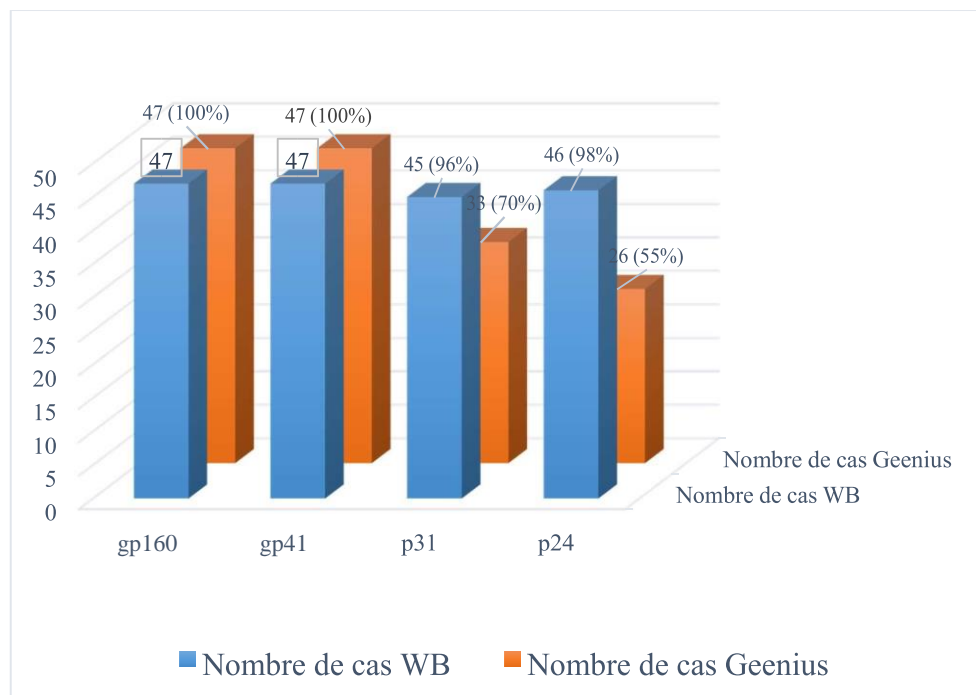


Figure 4: Evaluation de la concordance entre les protéines présentes dans le WB et dans le Geenius.

En prenant comme référence la confirmation de la séropositivité de l'HIV selon les critères du WB, nous avons déterminé la sensibilité de chaque bande WB et Geenius, les résultats sont résumés dans le tableau 1 :

Tableau1: Sensibilité des tests WB et Geenius pour chaque bande de protéines

	WB	Geenius
p17	78%	-
p55	57%	-
p24	100%	53%
p31	97%	70%
p51	89%	-
p66	100%	-
Gp120	100%	-
Gp41	100%	100%
Gp160	100%	100%

Les 48 échantillons étaient confirmés séropositifs selon les critères des deux tests diagnostic avec une sensibilité à 100%, cela signifie que le risque d'avoir un faux négatif par le test de confirmation est nul pour le Geenius en prenant le WB comme référence. Les résultats sont présentés dans le tableau 2 :

Tableau2 : Performances des tests WB et Geenius dans le diagnostic du HIV-1 et HIV-2

		Geenius				
		Positifs	Négatifs			
<u>WB</u>	Positifs	47	0	1	0	
	Négatifs	0	0	0	0	
	Total	47	0	1	0	48

Discussion

A. REVUE DE LA LITTÉRATURE

A.1 Historique :

En 1983, Luc Montagnier a découvert le virus de l'immunodéficience humaine après une biopsie ganglionnaire chez un homosexuel de 33 ans ayant un «lymphadénopathie généralisée». Initialement, il avait le nom de lymphadénopathyassociated virus (LAV) puis il a été dénommé par le virus de l'immunodéficience humaine (HIV).

C'est un virus qui appartient à la famille de Retroviridae. Le Human T cell leukemia virus (HTLV) et le HIV sont les deux groupes associés à des pathologies humaines. On distingue le HIV-1 et le HIV-2 (1986). Le HIV est responsable d'une infection chronique qui est responsable du SIDA (syndrome d'immunodéficience acquise) qui se complique par des pathologies néoplasiques et/ou des infections opportunistes. [7-8]

A.2 Caractères virologiques :

- Structure et organisation génomique du HIV : [9-10]

- Structure :

En ME (microscopie électronique), le HIV présente les caractéristiques morphologiques des lentivirus qui possèdent une enveloppe avec des glycoprotéines et un core tronculaire.

Ce dernier est formé des 2 molécules d'ARN et de 3 protéines. Les protéines du HIV-1 sont: la CA ou p24 (de la capsid), MA ou p17 (de la matrice), NC ou p7-p9 (la nucléocapside). Le core viral contient aussi 3 enzymes : La transcriptase inverse ou RT (p51-p66), l'intégrase (INT/p32) et la protéase (PROT/p12). L'enveloppe se trouve autour de la nucléocapside, possède une double couche lipidique, et de 2 gp. La gp transmembranaire, appelée de fusion, traverse la double couche lipidique, elle s'attache par des liaisons faibles, à la gp d'enveloppe externe, appelée de surface, faisant saillie sous forme de spicules à la surface du virus.

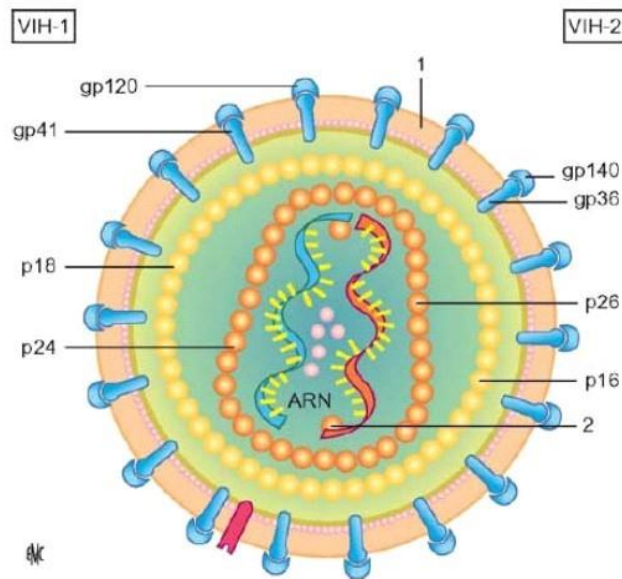


Figure 5: Structure des HIV

1 : Double couche lipidique, 2 : Transcriptase inverse [9]

- Organisation génomique:

Le génome du virus de l'immunodéficience acquise est un ARN simple brin, qui subit lors de la répllication dans la cellule une rétrotranscription en ADN double brin et de chaque côté on trouve des séquences appelées LTR (long terminal repeat) ayant un rôle essentiel dans l'intégration du virus et sa transcription. Il contient, 3 gènes qui codent pour les protéines de structure. Ainsi on distingue les gènes gag, pol et env de l'extrémité 5' vers 3', qui codent pour les protéines internes, les enzymes virales et les glycoprotéines d'enveloppe respectivement. Les gènes régulateurs pour le HIV-1 sont : rev (regulateur), tat (transactivateurs), vpr (viral protein r) nef (negative expression factor), vif (viral infectivity factor), et vpu (viral protein u). Le gène régulateur pour le HIV-2 est : le vpx (viral protein x).

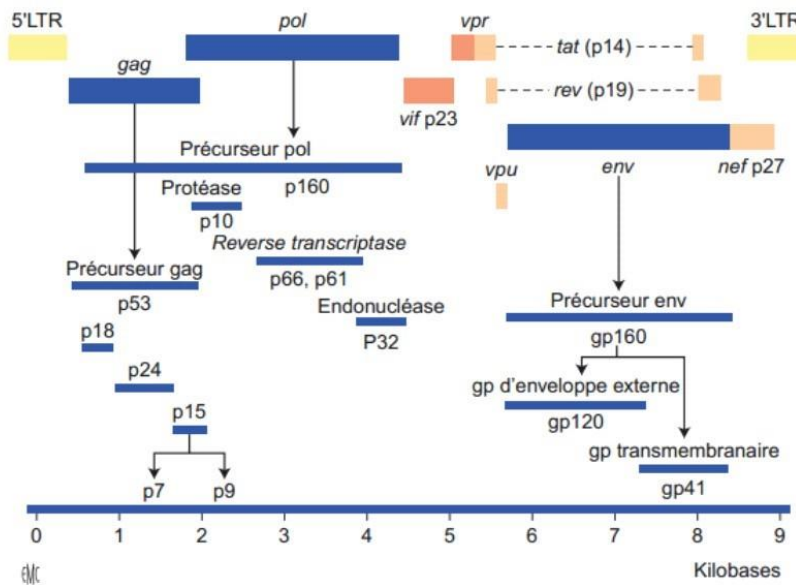


Figure 6: Organisation génomique du HIV-1 sous sa forme d'ADN proviral intégré dans le génome cellulaire. [9]

- Variabilité génétique et différents types de HIV: [11-12-13]

Le HIV est caractérisé par une variabilité génétique. Cette dernière est due à la forte réplication virale, à un taux élevé d'erreur de la RT de recombinaisons. Ainsi on peut trouver environ 1 erreur/cycle répliatif. Cette variabilité génétique est à l'origine de la diversification des HIV. Il existe deux types de HIV : les types 1 et 2, qui ont une homologie globale de presque 50 %. Le HIV-1 est divisé en 4 groupes M, O, P et N (non M, non O).

Le groupe M (majoritaire) est divisé en 9 sous-types (A, B, C, D, F, G, H, J et K), et qui est responsable de la pandémie actuelle. Il existe une différence de pathogénicité entre les différents groupes et sous-types de HIV-1 : le groupe O possède une faible capacité répliatif («fitness») par rapport au groupe M, le sous-type C du groupe M possède une plus faible capacité répliatif par rapport au B.

Le HIV-2 possède 8 sous-types qui présentent une capacité répliatif plus faible que celle de l' HIV-1 ainsi une plus lente évolution vers le stade SIDA maladie.

- Cycle de réplication du HIV : [9-12-13]

Le cycle de réplication est divisé en deux étapes :

La première étape fait appel à des enzymes virales sans intervention des mécanismes cellulaires ou viraux, et elle se termine par l'intégration du virus dans le génome cellulaire,

La deuxième correspond à la synthèse de nouveaux virions, et est régulée à la fois par des mécanismes cellulaires et viraux.

- Entrée du virus dans la cellule :

Le virus se lie à la molécule CD4 par l'intermédiaire de la gp120 en impliquant le domaine CDR2. Il en résulte un changement conformationnel de la gp120, ce changement lui permet de reconnaître les corécepteurs. Les 2 premiers identifiés sont CXCR4 et CCR5. Lorsqu'une délétion de 32 paires de bases dans le gène qui code CCR5 est présente, il en résulte une protéine non fonctionnelle. Les personnes homozygotes possédant cette délétion peuvent résister à l'infection à HIV. Par contre les individus hétérozygotes sont infectés par le HIV mais avec une évolution ralentie de l'infection.

- Rétro-transcription et intégration :

Dès son entrée à l'intérieure de la cellule, et au niveau du cytoplasme se produit la rétro-transcription de l'ARN viral en ADN complémentaire par une ADN polymérase ARN dépendante (RT). Cette dernière qui est aussi une ADN polymérase ADN dépendante, copie l'ADN à un seul brin en ADN bicaténaire qui entre dans le noyau cellulaire et s'intègre dans l'ADN chromosomique via l'intégrase virale.

- Transcription et synthèse des protéines virales :

La transcription du génome en ARN messagers (ARNm) se fait via l'ARN polymérase.

Les 1^{er} ARNm transcrits codent pour les gènes régulateurs notamment les gènes tat, rev et nef, après des ARNm plus longs apparaissent qui codent les protéines gag, pol, env, vif, vpr, vpu (ou vpx). Le gène nef régule la réplication virale en interagissant avec des séquences régulatrices négatives (NRE). La protéine rev favorise le transport des ARNm (codant pour les protéines de structures) du noyau vers le cytoplasme pour passer à la 2^{ème} étape de la réplication, qui est la formation des protéines virales de structure codées par deux types d'ARNm viraux : un type qui correspond aux gènes gag-pol et un autre recouvre le gène env.

L'encapsidation et de la dimérisation de l'ARN viral arrive après la synthèse des protéines virales, et qui font intervenir les protéines de nucléocapside.

A la fin, la sortie du virus de la cellule se fait par bourgeonnement, sous forme immature (action des protéines vpu et vif).

La maturation extracellulaire se fait grâce à la protéase virale.

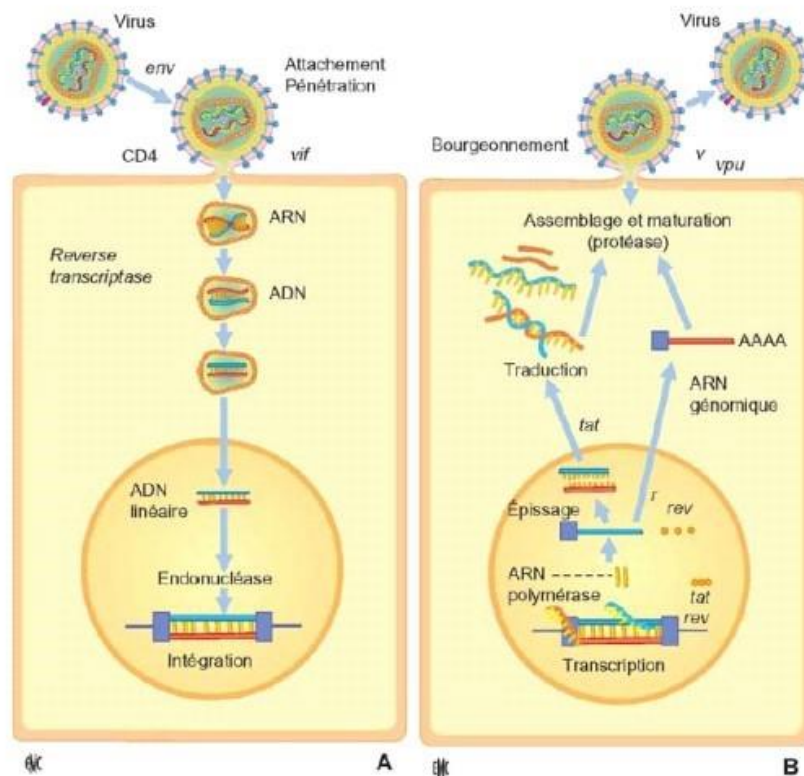


Figure 7: Cycle de réplication HIV

A. La première partie du cycle débute par l'attachement du virus à la molécule CD4 et se termine par l'intégration de l'ADN proviral dans le génome cellulaire.

B. La deuxième partie du cycle débute par la transcription de l'ADN proviral et se termine par la sortie de nouveaux virions par bourgeonnement à la surface de la cellule. [9]

- **Tropisme** : [11-15]

Le tropisme du HIV-1 pour les cellules porteuses de la molécule CD4 a été établi en juillet 1983. In vivo, chez les patients infectés, le virus se réplique dans les monocytes et macrophages, les lymphocytes CD4, les cellules folliculaires dendritiques des ganglions, dans la microglie du système nerveux central, dans les cellules dendritiques du sang et leurs homologues... Il se multiplie également dans les syncytiotrophoblastes porteurs de la molécule CD4. Les virus qui se répliquent dans les macrophages utilisent essentiellement le corécepteur CCR5 par contre les virus à tropisme lymphocytaire utilisent principalement le CXCR4.

A.3 Evolution épidémiologiques :

- **Evolution mondiale** : [16]

L'infection à HIV reste un problème majeur de santé publique à l'échelle mondial; les dernières statistiques en fin de 2021 de l'ONUSIDA/OMS, ont montré que près de 37.6 millions de personnes vivaient avec le HIV (PVHIV) en 2020. 1.5 millions de nouveaux cas par le HIV en 2020. 690 000 de décès liées au SIDA en 2020. 27.4 millions de cas avaient accès au traitement antirétroviral en 2020. 77.5 millions de personnes ont été diagnostiqués HIV positifs depuis le début de l'épidémie. [1]

Depuis la fin de 1999, on suppose que tous les pays du monde étaient touchés par le virus de l'immunodéficience acquise mais avec une différence de distribution entre les pays pauvres et les pays riches, notamment entre l'Afrique et le reste du monde. Malgré que le taux de nouvelles infections à HIV a diminué, le nombre total des PVHIV ne cesse d'augmenter.

- **Situation au Maroc** : [2]

- Contexte épidémiologique :

Au Maroc, la prévalence du HIV est encore faible et stable, autour de 0,1%. Elle est plus élevée chez les professionnelles du sexe féminines (1,3%), les homosexuels (4,5%), les personnes qui s'injectent des drogues (7,1%) et les migrants (3%), les détenus (0,5 à 1%) et les ouvrières saisonnières (0,4 à 1%). Ceci confère à l'épidémie à HIV un caractère concentré et hétérogène. En fin 2017, le nombre des PVHIV était estimé à 20.000, dont 40% étaient des femmes (8000).

Le nombre d'enfants < 15 ans est inférieur à 1000.

Entre 2004 et 2017, les nouvelles infections à HIV ont connu une baisse 34% (de 1500 à 990). Avec une baisse de 30% des décès entre 2011 et 2017 (de 690 à 480). Autour de 67% des nouvelles infections étaient rencontrées chez les populations clés et leurs partenaires. Près de 14000 cas de HIV/sida ont été déclaré entre 1986 et 2017. Les femmes en représentent 50% avec une prédominance de la tranche d'âge entre 15 et 44 ans.

La transmission est essentiellement sexuelle (90%). La transmission de la mère à l'enfant (verticale) et par injection de drogues, représentent 3% et 2 % respectivement.

65 % des cas sont focalisés dans 3 régions, Souss-Massa (25%), Marrakech-Safi (21%) et 20% dans la région de Casablanca. 90% des PVHIV provient du milieu urbain.

- Riposte nationale au sida :

Au Maroc, la riposte au HIV a été organisée à travers le développement de plans stratégiques nationaux successifs afin de programmer et de coordonner les activités de lutte aux niveaux national et régional. Plusieurs départements ministériels en plus du ministère de la Santé, font partie du système de lutte contre le SIDA. Au Maroc, la riposte au SIDA a contribué à des progrès notables en matière de prévention, de conseil, de dépistage, de prise en charge globale des PVHIV, de prévention de la TME, et en matière de leadership.

Les programmes de prévention pour les populations les plus exposées aux risques d'infection HIV (PPER) ont été développés. Le programme de réduction des risques chez les personnes qui s'injectent la Drogue (PID) y compris le traitement de substitution à la méthadone est mis en œuvre dans les différents sites identifiés.

Au cours de l'année 2017, grâce aux campagnes, à l'extension de l'intégration du dépistage du HIV dans les services de Santé et l'offre assurée par les ONG, près de 160.000 patients des populations clés ou vulnérables ont bénéficié de programmes de prévention du HIV. Les priorités du Plan stratégique national de lutte contre le sida (PSN) entre 2017-2021 font appel à l'accélération des interventions de prévention combinée pour les populations clés ou vulnérables, l'extension de l'offre de dépistage, la mise en œuvre de la stratégie d'élimination de la TME, l'amélioration de la couverture par les antirétroviraux, le suivi évaluation et la mise en place d'un agenda de recherche.

A.4 Histoire naturelle du HIV : [17-18]

L'évolution classique de l'infection par le HIV se fait en 3 phases :

- Primo-infection : 2 à 6 semaines après la contamination.

Elle se manifeste cliniquement par un syndrome pseudo grippal, poly-adénopathie, angine ou pharyngite, fièvre, diarrhées, ulcérations buccales ou œsophagiennes, éruptions cutanées et parfois un syndrome méningé.

Ces signes peuvent durer 1 à 2 semaines avant la régression spontanée.

Biologiquement, les principales anomalies sont : les anomalies hématologiques : une thrombopénie puis une lymphopénie. A partir de la 2^{ème} semaine, un syndrome mononucléosique. L'hyperlymphocytose porte sur les lymphocytes T CD8, parcontre la déplétion en lymphocytes T CD4 est importante. Les autres signes biologiques rencontrés sont la cytolysse hépatique qui est asymptomatique en général, à ce stade le patient est très contagieux et peut transmettre la maladie. La recherche de l'antigène p24 permet le diagnostic positif.

- Phase chronique ou de latence clinique : (plusieurs années)

Installation d'un équilibre entre la multiplication du virus et les défenses de l'organisme.

Le virus de l'immunodéficience acquise continue à se répliquer, et une baisse du taux de lymphocytes CD4+ (60 à 100 mm³/an) en résulte. Chez certains sujets, la progression reste beaucoup plus rapide (dans 5 à 10% des cas). Malgré si le sujet est toujours immunocompétent, au fur et à mesure de la déplétion en CD4+, certaines pathologies peuvent apparaître. Des infections mineurs (c<infections ORL, candidose buccale...), une tuberculose (pulmonaire souvent à ce stade). Ces pathologies, même si non caractéristiques du HIV mais elles doivent orienter le clinicien dans son diagnostic. Des adénopathies périphériques peuvent exister au cours de cette phase.

- Phase de SIDA : (Plusieurs années plus tard avec un taux de lymphocytes T CD4+ qui s'approche de 200/mm³)

Apparition des infections indicatrices du SIDA ou maladies opportunistes. Avec une symptomatologie très polymorphe. A ce stade un syndrome cachectique peut s'installer, ainsi que des infections bactériennes iatrogènes, complications tumorales (maladie de Kaposi, lymphomes malins non hodgkiniens)...

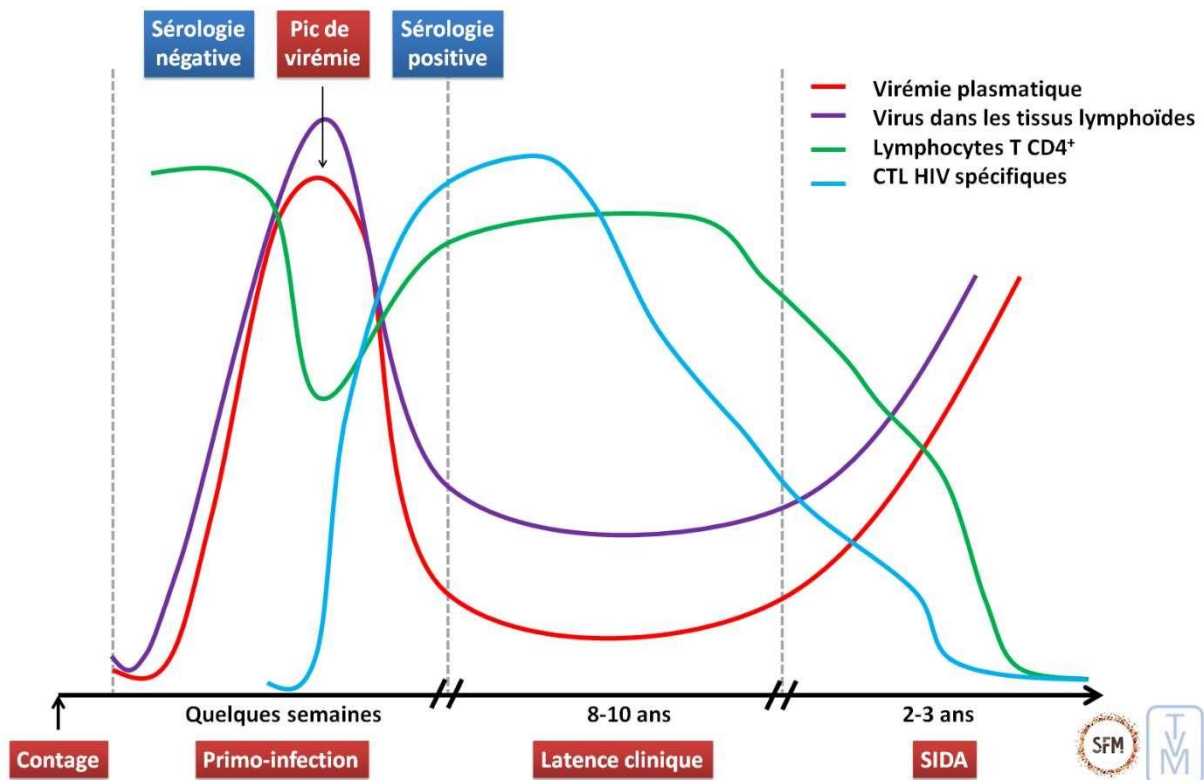


Figure 8: Histoire naturelle du HIV [19]

A.5 CLINIQUE :

1. Manifestations cliniques : [16]

Lors de l'infection à HIV : 2 types de manifestations sont rencontrés:

- Les manifestations qui sont en rapport avec le virus en lui-même
- Les manifestations qui sont dues au déficit immunitaire causé par le virus

1.1. Manifestations cliniques liés au HIV ; [13]

- Pneumopathie lymphoïde interstitielle (LIP)

Le diagnostic est histologique, caractérisé par un infiltrat lymphocytaire massif dans les septa interalvéolaires. Cliniquement il se manifeste par des adénopathies (ADP) superficielles et une

hépatosplénomégalie (HSMG). Des ADP médiastinales peuvent être aussi rencontrées. Le diagnostic est retenu sur la présence des images radiologiques d'un syndrome interstitiel franc avec absence du germe.

- Atteinte rénale :

Caractérisée par une protéinurie (PU) qui peut évoluer vers un syndrome néphrotique (SN) et une insuffisance rénale chronique (IRC). On peut noter aussi une sclérose segmentaire et focale (SSF).

- Atteinte neurologique :

Deux principaux signes peuvent être observés : des troubles moteurs fonctionnels et une atteinte du développement intellectuel.

- Atteinte cardiaque :

Elle peut se manifester par une cardiomyopathie (rare). Elle est caractérisée par une hypertrophie ventriculaire (HVG) avec une cardiomégalie. On peut voir aussi une insuffisance cardiaque ainsi qu'une hypertension artérielle pulmonaire.

- Atteinte hépatique :

Les principaux signes rapportés sont l'hépatomégalie et l'augmentation des transaminases. Avec apparition d'une hépatite chronique active et une infiltration des régions portales et lobulaires.

- Atteinte hématologique :

Elle peut révéler l'infection, elle se manifeste par des cytopénies auto-immunes avec une moelle riche, qui touche les plaquettes et moins fréquemment les polynucléaires. Elle est nettement différente des hypoplasies médullaires qui sont à l'origine d'une pancytopenie plus ou moins profonde, rencontrée après une évolution de plusieurs années dans le cadre de déficit immunitaire sévère.

1.2.Complications :

- **Tumorales :**

Le sarcome de Kaposi est rare dans les pays non endémique.

Lymphome non hodgkinien (LNH) de type B, où le Virus EBV joue un rôle important.

D'autres types de tumeurs ont été observés, de type léiomyosarcome surtout, qui peuvent être liés à l'EBV.

- **Infectieuses :** secondaires au déficit immunitaire engendré par le HIV:

- a) Infections bactériennes :

Elles sont plus fréquemment rencontrées chez les enfants et représentent les infections banales à pneumocoque (*Streptococcus pneumoniae*), méningocoque (*Neisseria meningitidis*), Staphylocoque aureus (SA), Haemophilus influenzae (HI)... Elle atteint surtout le poumon et la sphère ORL mais elle peut atteindre aussi le tube digestif et le derme. L'évolution peut être marquée par la survenue de septicémie, méningites ou cellulites.

- b) Infections opportunistes :

Infection à *Pneumocystis jirovecii* : (anciennement appelée carinii)

Dans 17% des cas, elle est inaugurale. [17] Elle se manifeste cliniquement par à une pneumopathie fébrile rapidement évolutive avec parfois une détresse respiratoire importante associée. Elle apparaît en cas des déficits immunitaires sévères (liée au taux de CD4 circulants). La radiologie montre un syndrome interstitiel ou plus souvent alvéolo-interstitiel. Grâce à la précocité du diagnostic et à l'instauration d'une prophylaxie systématique. Elle est devenue moins fréquente. [20].

Infection à *Mycobacterium tuberculosis* : 1/3 des Patients vivants avec le HIV sont co-infectées par la tuberculose, cette dernière reste une cause principale de décès parmi les PVHIV malgré qu'elle est en général une infection curable. Les tuberculoses multirésistantes sont fréquentes chez les tuberculeux qui sont HIV positifs. Plusieurs localisations sont atteintes : pulmonaire et extra-pulmonaires (hépatique, ganglionnaire, splénique, cérébrale, osseuse).

Infection à *Candida albicans* : [13] Elle peut se manifester d'un banal muguet jusqu'à ce qu'il s'étende à l'œsophage en cas de déficit immunitaire sévère. Donc la dysphagie est le principal symptôme. Le traitement par les dérivés imidazolés est très efficace.

Infection à Cytomégalo­virus (CMV) : Les manifestations cliniques de l'infection à CMV s'observent à un stade avancé de l'immunodépression ($CD4 < 50-100/mm^3$). Les formes cliniques les plus fréquentes sont la chorio-rétinite, les colites, les ulcérations digestives, les méningoencéphalites et les pneumopathies. Sa prévalence a diminuée de 80% avec l'avènement de la trithérapie anti-retrovirale.

Infection à *Cryptosporidie* : [13] Elle se manifeste par une diarrhée chronique douloureuse pouvant évoluer vers un syndrome cachectique. Les ookystes de cryptosporidie ne sont pas toujours excrétés dans les selles et ne sont vus qu'à l'analyse d'un fragment de biopsie jéjunale.

Infection à *Isospora belli* : [13] Elle se manifeste par une diarrhée aqueuse, profuse et prolongée à l'origine d'une dénutrition associée à une fièvre. Le diagnostic est basé sur l'examen parasitologique des selles (EPS). Le traitement par le cotrimoxazole est efficace.

Infection à *Toxoplasma gondii* : [13] Elle se manifeste par des céphalées, somnolence, fièvre, déficit moteur, épilepsie. On note la présence des abcès souvent multiples et un œdème péri lésionnel au scanner. Les autres localisations sont cardiaques, pulmonaires, rétiniennes, et disséminées. Le traitement est à base de sulfadiazine+pyriméthamine et l'acide folinique.

Co-infection VHB, VHC : [8] Cette co-infection doit être toujours recherchée. L'infection par le virus de l'hépatite C (VHC) n'est parfois décelable que par PCR avec une sérologie négative. Les manifestations cliniques sont celles d'une hépatite chronique. La maladie est le plus souvent silencieuse jusqu'à la survenue des complications de la cirrhose.

Autres infections opportunistes : D'autres infections par des parasites, des champignons ou des mycobactéries peuvent survenir. Elles touchent essentiellement le tube digestif, la peau, le système nerveux central et les poumons. [16]

2. Classification clinique selon les critères de l’OMS : [16]

a) Stade I :

- Il peut être asymptomatique ou apparition d’une lymphadénopathie généralisée persistante.

b) Stade II : il se caractérise par :

Une HSMG persistante inexplicée ; Perlèches ; Ulcérations orales récurrentes ; Erythème gingival linéaire ; Infection à molluscum contagiosum extensive ; Infections respiratoires hautes récurrentes. Parotidomégalie persistante inexplicée ; Zona ; Onychomycose ;

c) Stade III : elle se manifeste par :

- Une diarrhée chronique inexplicée > 14 jours ; une malnutrition modérée inexplicée ; Fièvre persistante inexplicée >1 mois ; Candidose buccale récurrente ou persistante après 6 semaines de vie ; Parodontite ou gingivite ulcéro-nécrotique aiguë ; Pneumopathie interstitielle lymphoïde ; Tuberculose ganglionnaire ou pulmonaire ; Pneumopathies chroniques liées au HIV incluant la bronchiectasie ; Pneumonies bactériennes sévères récurrentes ; Pneumonie à Pneumocystis jirovecii ; Tuberculose extra-pulmonaire disséminée ; Candidose œsophagienne ou trachéale ; Leucoplasie orale chevelue ; Infection extra-pulmonaire à cryptococcus ; Infections bactériennes sévères (méningite, septicémie, pneumonie, ostéomyélite...) ; Infection à CMV après l’âge de 1 mois ; Infection du SNC à toxoplasmose ; Mycoses disséminées ; néphropathie symptomatique liées au HIV ; Infection chronique à HSV ; Lymphome B non hodgkinien ; Sarcome de Kaposi ; cardiomyopathie symptomatique liées au HIV ; Encéphalopathie ; Isosporose chronique ; Cryptosporidiose chronique ; Leucoencéphalopathie multifocale progressive ; Anémie inexplicée.

A.6 PROFIL BIOLOGIQUE

1. Circonstances du dépistage de l’infection par le HIV: [19]

Le dépistage de l’infection par le HIV doit être réalisé après information et recueil préalable du consentement du patient.

- Dans la population générale, il est proposé notamment chez les adultes n’ayant jamais été dépisté, en cas de suspicion d’IST, dans le cadre d’un projet de grossesse et chez les personnes hétérosexuelles ayant plus d’un partenaire par an.
- Le dépistage ciblé des populations les plus exposées telles que les travailleurs du sexe, les personnes originaires des pays à forte prévalence, les usagers de drogues injectables, les partenaires sexuels de PVHIV et les hommes ayant des relations sexuelles avec les hommes (HSH) doit se faire à intervalles réguliers, tous les ans au moins, tous les 3 mois pour les HSH.

- En cas d'accident d'exposition virologique, professionnel ou sexuel, un dépistage est indiqué à J0, puis au 2^{ème} et 4^{ème} mois.

2. Prélèvements : [21]

- Le diagnostic sérologique peut être effectué sur un prélèvement de sang recueilli sur tube sec ou sur tout autre tube validé pour le test utilisé.
- L'ensemble des tests de biologie moléculaire peut être effectué sur un prélèvement de sang sur tube EDTA ou sur tout autre tube validé pour le test utilisé.
- Au cas par cas, la recherche du génome viral peut être envisagée sur d'autres matrices.
- La mise en évidence de virus infectieux dans le sang, en utilisant les co-cultures de cellules cibles inoculées avec les lymphocytes du patient, nécessite du sang prélevé sur tube hépariné Cette analyse est réservée au cadre de la recherche dans les laboratoires spécialisés équipés d'un laboratoire de sécurité de niveau L3.
- Les conditions de conservation et de transport dépendent de l'analyse effectuée et du test utilisé.

3. Méthodes :

3.1 Dépistage de l'infection par le HIV : [21]

L'infection par le HIV est détectable par les tests sérologiques les plus sensibles en moyenne 14 à 15 jours après le contagé.

3.1.1. Tests de dépistage par méthodes immuno-enzymatiques (type ELISA): [6]

Depuis le milieu des années 1980, il y a eu cinq générations d'immunoessais enzymatiques (EIE)

- Les tests de première génération ont utilisé des antigènes dérivés de lysats viraux entiers provenant de cultures séropositives pour la détection des anticorps IgG.
- Dans les essais de deuxième génération, des peptides synthétiques ou des protéines recombinantes dérivées des régions immunodominantes (IDR) des protéines du HIV-1 et gp36 du HIV-2 ont été utilisés pour augmenter la sensibilité et réduire la fausse positivité.

- Les tests de troisième génération, tels que l'EIA HIV-1/HIV-2 Plus O des systèmes génétiques, ont utilisé un format sandwich et une variété d'antigènes pour capturer les anticorps HIV-1 et -2 dans le sérum. Ces antigènes comprenaient le p24 recombinant, le gp160 dérivé du groupe M du HIV-1, un peptide recombinant du HIV-2 gp36 IDR et un peptide synthétique du groupe O du HIV-1. En plus des IgG, les tests de troisième génération ont également détecté des anticorps IgM précoces contre le HIV-1 et ont encore réduit la période de fenêtre.
- Les EIE de quatrième génération (mixtes et combinés) : détectent simultanément l'antigène p24 du HIV-1 et les anticorps dirigés contre le HIV-1 et le HIV-2 avec un seuil minimal de détection de 2 UI/ml. Ce principe permet de raccourcir la fenêtre sérologique et d'augmenter les chances de détection précoce de l'infection par le HIV. Cependant, dans ces tests, l'antigène p24 et les anticorps anti-HIV-1/2 détectés ne sont pas distingués individuellement.
- Les EIE de cinquième génération, ont utilisé plusieurs ensembles de perles magnétiques recouvertes d'anticorps monoclonaux p24 et d'épitopes spécifiques du HIV-1 (groupes M, N et O) et du HIV-2.

3.1.2 Tests Rapides d'Orientation Diagnostique (TROD) et auto-tests : [21]

Ces tests font appel à des techniques d'agglutination, d'immuno-filtration ou d'immunochromatographie. C'est un test rapide (< 1 heure). L'utilisation de ces tests pourrait rendre plus facile les nouvelles stratégies de dépistage ; par leur simplicité et rapidité, ils permettraient ainsi de diminuer le nombre des perdus de vue et d'avoir accès plus facile aux populations les plus concernées.

Leurs évaluations ont montré des performances satisfaisantes dans le contexte de l'infection chronique, mais ils ne permettent pas de détecter les infections récentes datant de moins de 3 mois avec une efficacité suffisante.

3.1.3. Détection de l'antigène p24 : [21]

L'antigénémie p24 correspond à l'antigène soluble de la capside du HIV-1 sécrété par les cellules dans lesquelles le virus se multiplie. Des trousse commerciales permettent de mesurer

uniquement l'antigénémie p24 par ELISA. L'antigène présent dans un liquide biologique est capturé par des anticorps monoclonaux. Une réaction positive doit toujours être confirmée par un test de neutralisation afin d'assurer de la spécificité de l'Ag p24 détecté. Ce test tend à être remplacé par la mesure de la charge virale.

3.2 Confirmation de l'infection par le HIV :

3.2.1 Test Western-blot (WB) ou l'immuno-blot (IB) : [21]

Le WB est le test de confirmation de référence. Les protéines virales sont transférées sur des bandes de nitrocellulose après la migration électrophorétique des lysats en gel de polyacrylamide. Les anticorps qui sont présents dans le sérum vont se fixer sur les différentes protéines avec une révélation immuno-enzymatique avec substrat précipitant à l'emplacement des complexes Ag-Ac. Selon les critères français, un WB est considéré comme positif quand 3 Ac sont présents dont au moins 2 contre les gp de l'enveloppe (gp160, gp120 et gp41 pour HIV-1) et un contre une protéine codée par les gènes gag (p55, p24 et p17 pour HIV-1) ou pol (p68, p52 et p34 pour HIV-1).

3.2.2 Test Geenius HIV-1/2 : [6]

Bio-Rad a récemment développé le test supplémentaire Geenius HIV-1/2, qui est un test basé sur le principe immunochromatographique destiné à la confirmation et à la différenciation des anticorps distincts contre les types HIV-1 et HIV-2. Ce nouveau test utilise une cartouche à flux latéral fermé avec une plate-forme à double voie pour détecter les anticorps dirigés contre les peptides recombinants ou synthétiques contre le HIV-1 (p41, gp160, p24 et p31) et le HIV2 (gp36 et gp140).

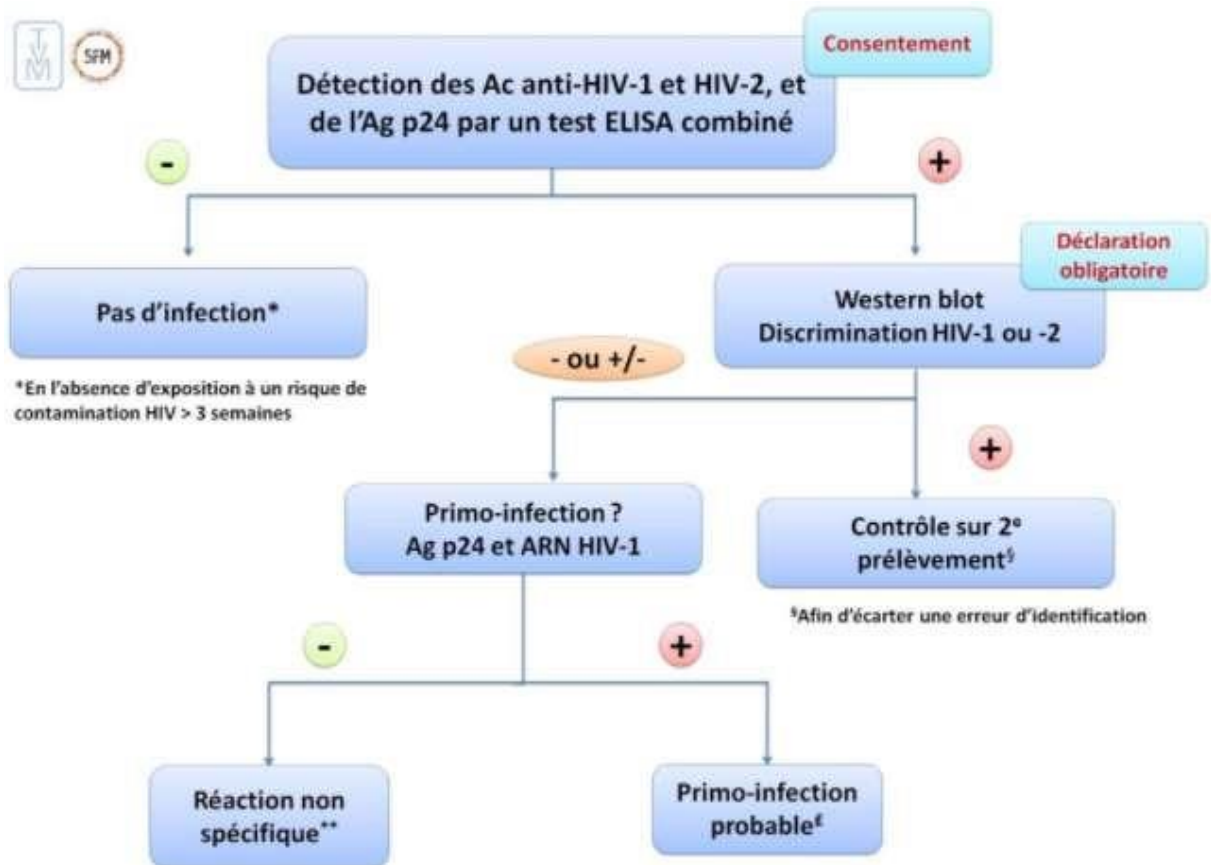


Figure 9 : Stratégie diagnostique de l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (HIV) [19]

3.3. Diagnostic en phase précoce de l'infection : [19]

L'évolution habituelle des marqueurs biologiques au cours d'une primo-infection par le HIV est décrite dans la figure 10. Le premier marqueur à se positiver est l'ARN plasmatique, en moyenne à partir du 10^{ème} jour après la contamination, suivi de l'Ag p24 aux alentours du 15^{ème} jour, puis des Ac anti HIV à partir du 20^{ème} jour avec les tests Ac seuls et du 25^{ème} jour avec les TROD. Les tests sérologiques combinés présentent une sensibilité proche de celle de l'Ag p24 seul. Les tests de confirmation qui détectent des IgG dirigées contre différentes protéines du HIV se positivent quant à eux à partir du 25^{ème} jour après contamination.

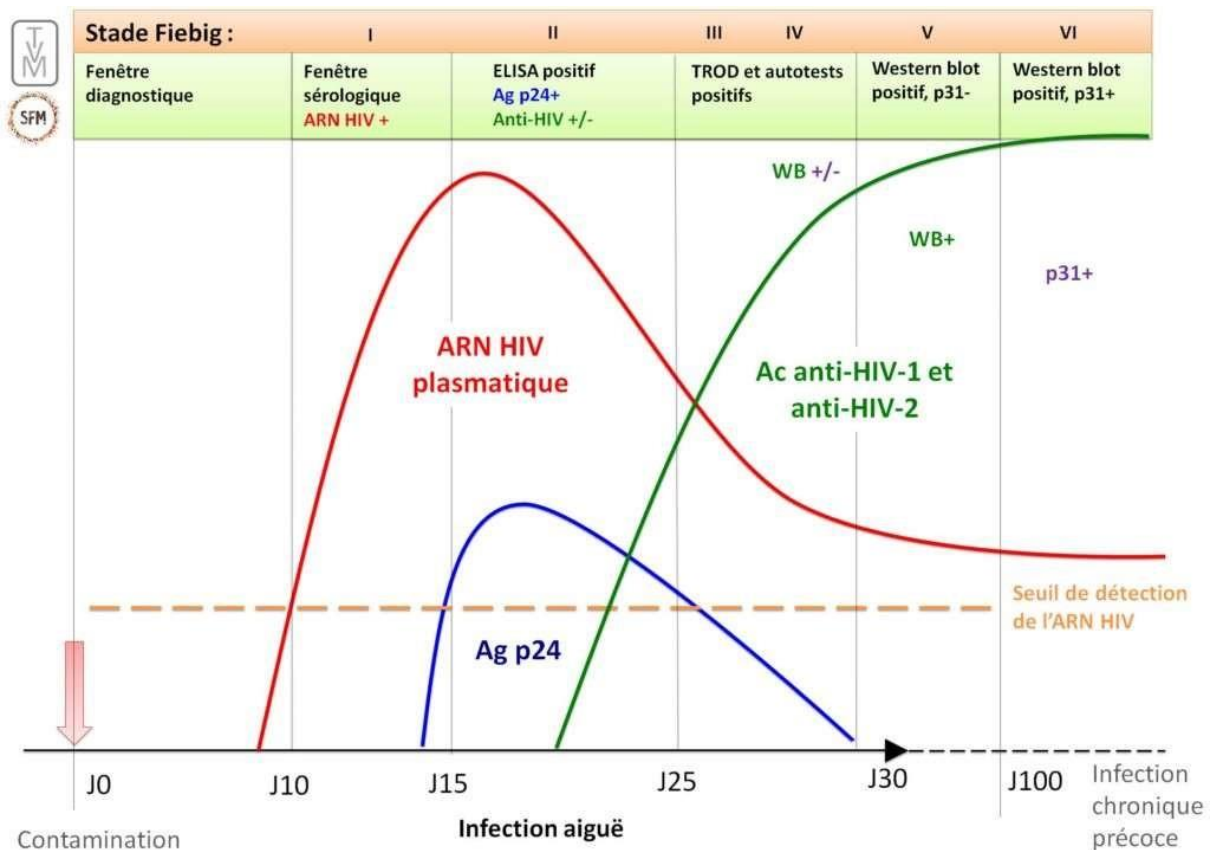


Figure 10 : Evolution des marqueurs virologiques au cours de la primo-infection par le HIV. [19]

3.4. Suivi de l'infection :

3.4.1 Détection et quantification des acides nucléiques : [21]

- Charge virale ARN HIV :

Depuis leur commercialisation en 1996, les tests de charge virale ont connu des progrès technologiques importants particulièrement en matière d'automatisation.

Plusieurs méthodes de quantification de la charge virale HIV-1 ont été développées et plusieurs tests commerciaux sont disponibles pour mesurer l'ARN du HIV-1 dans le plasma. Les techniques diffèrent par leur limite de détection, leur domaine de linéarité, le gène cible et le volume de plasma nécessaire. La PCR en temps réel est la technique la plus usuelle et la plus sensible avec une limite de détection entre 20 et 40 copies d'ARN HIV-1/ml.

La quantification de l'ARN HIV-2 nécessite une technologie spécifique, un test commercial est désormais disponible.

- **Détection et quantification de l'ADN proviral intracellulaire :**

L'ADN HIV-1 dans les cellules mononuclées sanguines peut être détecté et/ou quantifié par PCR en temps réel. Il n'existe pour le moment qu'une seule trousse commerciale disponible.

3.4.2. Suivi immunologique : [19]

Le taux de lymphocytes T CD4+ circulants est un marqueur imparfait mais satisfaisant sur un plan clinique de la déplétion qui touche dès le début de l'infection par la HIV les cellules domiciliées dans les structures lymphoïdes associées aux muqueuses.

L'analyse de taux de lymphocytes T CD4+ se fait par cytométrie en flux et reste un élément clé du bilan de découverte de l'infection par le HIV permettant d'évaluer l'avancement de la maladie. Au cours du suivi thérapeutique, la numération des lymphocytes T CD4+ permet de juger de la restauration immunitaire et donc de l'efficacité thérapeutique.

Trois seuils sont retenus :

- 200 CD4/mm³, en dessous duquel la maladie correspond au stade 3 du CDC (SIDA) ;
- 350 CD4/mm³, en dessous duquel la maladie correspond à un stade avancé de l'infection en phase chronique.
- 500 CD4/mm³, au-dessus duquel la maladie est considérée à un stade précoce de la maladie. Cette dernière valeur est retenue comme objectif thérapeutique.

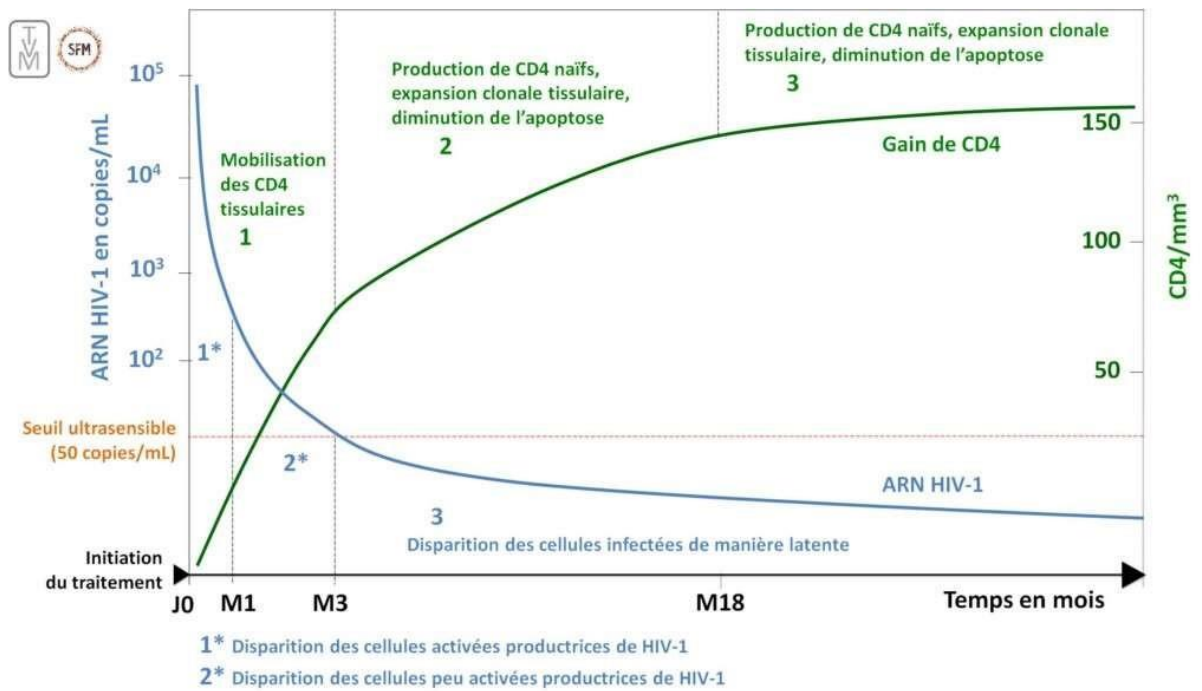


Figure 11 : Evolution de la charge virale plasmatique ARN du virus HIV-1 et du taux de lymphocytes T CD4+ circulants après l'initiation d'un traitement antirétroviral. [19]

3.5. Autres examens :

Isolement viral en culture cellulaire.

Test génotypique de résistance aux antirétroviraux...

A.7 Attitude thérapeutique :

Les médicaments utilisés pour traiter l'infection par le HIV sont appelés antirétroviraux (ARV). Ce traitement antirétroviral a pour objectif principal de diminuer la mortalité et la morbidité de l'infection par le HIV en restaurant un nombre de lymphocytes CD4 supérieur à 500/mm³, et ainsi d'éviter la progression vers le stade SIDA. Il faut pour cela réduire au maximum la réplication virale. Les traitements mis en place permettent d'améliorer la qualité de vie des sujets séropositifs, malgré les nombreux effets secondaires. La difficulté est donc de conserver une bonne tolérance au traitement sur le long terme. Actuellement, l'absence d'éradication du virus implique de concevoir le traitement de la maladie comme un traitement chronique qui doit être administré sur plusieurs décennies. Le choix initial du traitement dépendait du nombre de lymphocytes CD4. Lorsqu'ils étaient inférieurs à 500/mm³, un traitement antirétroviral devait

être installé sans délai. A celui-ci était ajoutée une prophylaxie primaire en cas de CD4 inférieurs à 200/mm³. Chez un patient ayant des CD4 supérieurs à 500/mm³, le traitement antirétroviral peut être décalé s'il ne se sent pas prêt. [23]

Désormais depuis le rapport Morlat, [24] tous les patients dépistés et prêt à recevoir un traitement antirétroviral peuvent en bénéficier quel que soit le taux de CD4.

1. Les classes d'antirétroviraux :

Actuellement, le protocole antirétroviral impose une trithérapie utilisant les six grandes classes de molécules aujourd'hui à disposition :

Les inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse (INTI) : Le premier antirétroviral commercialisé appartient à cette classe. Il s'agit de la zidovudine, approuvée par la FDA en 1987 [25]. Elle n'est aujourd'hui plus utilisée dans les trithérapies, du fait de ses nombreux effets indésirables. Toutes les molécules de cette classe sont des pro-drogues, c'est à dire que seul le métabolite est actif. Ce dernier est formé dans le milieu intracellulaire par une triple phosphorylation. Les analogues nucléosidiques inhibent la réplication du HIV en se liant à la transcriptase inverse, ce qui empêche l'incorporation du nucléoside naturel dans l'ADN viral. Leur intégration dans l'ADN en cours de formation permet d'interrompre la réplication en empêchant l'incorporation des nouvelles bases et en bloquant l'élongation de la chaîne d'ADN proviral. [26]

Les inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse (INNTI) : Les INNTI sont des inhibiteurs non compétitifs de la transcriptase inverse du HIV-1 mais ils ne sont pas actifs vis-à-vis du HIV-2.

Les inhibiteurs de la protéase (IP) : Ce sont de puissants inhibiteurs qui agissent au niveau de la protéase en bloquant la phase tardive de la maturation virale. Les virions matures sont toujours produits mais sont incapables d'infecter d'autres cellules. Les inhibiteurs de protéase sont actifs sur les HIV-1 et 2. Du fait de leur métabolisation par le cytochrome P450 3A4, il en résulte de nombreuses interactions médicamenteuses avec les autres traitements. C'est d'ailleurs pour son puissant effet d'inhibition enzymatique du CYP3A qu'un des inhibiteurs de la protéase, le ritonavir est utilisé. Cette inhibition de l'iso-enzyme du cytochrome permet un ralentissement du métabolisme des IP, ces derniers possédant une biodisponibilité médiocre.

Leur concentration plasmatique et leur demi-vie sont donc améliorés. Le ritonavir est donc principalement utilisé comme potentialisateur de la pharmacocinétique des autres IP. [27] **Les inhibiteurs du récepteur CCR5** : Il n'existe qu'une seule molécule, le maraviroc, qui se lie de façon sélective au récepteur aux chimiokines humaines CCR5, et empêche ainsi le HIV-1 à tropisme CCR5 de pénétrer dans les cellules.

L'inhibiteur de fusion : Le seul représentant de cette classe, l'enfuvirtide, agit en se liant à une protéine virale (la gp 41 du HIV-1) présente dans le milieu extracellulaire. Cette liaison bloque ainsi la fusion entre la membrane virale et la membrane de la cellule cible, empêchant alors l'ARN viral d'entrer dans la cellule cible. Il existe une résistance naturelle du HIV-2. Le FUZEON est administré par voie injectable, ce qui limite fortement son utilisation. [28] **Les inhibiteurs de l'intégrase** : Les inhibiteurs de l'intégrase agissent en inhibant l'activité catalytique de l'intégrase. Cette enzyme codée par le HIV est nécessaire à la réplication virale. L'anti-intégrase empêche alors l'intégration de l'ADN proviral dans le génome de la cellule hôte. L'inhibition de l'intégration bloque ainsi la propagation de l'infection puisque l'ADN proviral circulaire non intégré disparaît en quelques jours de la cellule.

Les boosters : Comme expliqué précédemment, le ritonavir est utilisé pour ses propriétés de puissant inhibiteur enzymatique qui permettent d'augmenter de la biodisponibilité des antirétroviraux qui lui sont associés. Le cobicistat est également un inhibiteur sélectif de la sous-famille du CYP3A des cytochromes P450. Par le même mécanisme, il permet d'augmenter l'exposition systémique des antiviraux qui lui sont associés dont la biodisponibilité est limitée et la demi-vie écourtée de par leur métabolisme CYP3A4-dépendant. C'est pourquoi ces deux molécules sont associés dans les spécialités STRIBILD et GENVOYA.

2. Le protocole thérapeutique

Un rapport d'expert sur la prise en charge médicale des séropositifs pour le HIV datant de 2016 recommande de privilégier les trithérapies suivantes :

- 2 inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse (INTI) et un inhibiteur non nucléosidique de la transcriptase inverse (INNTI) : Ténofovir disoproxil - emtricitabine + rilpivirine.

- 2 inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse (INTI) et un inhibiteur de l'intégrase (INI) : o Ténofovir disoproxil - emtricitabine + dolutégravir o Ténofovir disoproxil - emtricitabine + ralégravir o Ténofovir alafénamide - emtricitabine + elvitégravir - cobicistat o Abacavir - lamivudine + dolutégravir
- 2 inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse (INTI) et un inhibiteur de la protéase associé au ritonavir (IP/r) o Ténofovir disoproxil – emtricitabine + darunavir/r. [23]

3. Les effets indésirables :

La molécule historique, l'AZT, est restée longtemps la seule disponible sur le marché et fut donc utilisée massivement en dépit de ses nombreux effets secondaires. L'arrivée des trithérapies a profondément changé l'évolution de l'infection à HIV. Mais cette transformation en une maladie chronique sous traitement permanent pose de nouvelles problématiques liées à la toxicité médicamenteuse. Les complications des ARV relèvent de mécanismes multiples, directs et indirects. Il faut pour cela différencier la toxicité d'organe des complications secondaires à des perturbations elles-mêmes déclenchées par leur prise prolongée, tout comme les effets secondaires à court, moyen et long terme.

Ces effets secondaires sont :

- La lipodystrophie : cette anomalie de la répartition des graisses peut être à l'origine d'une interruption du traitement par le patient. Elle constitue une part importante et préoccupante de la prise en charge des patients séropositifs. Nous observons souvent une association aux troubles lipidiques et glucidiques. Les INTI et IP sont les responsables des lipodystrophies, parmi eux les plus délétères sont la stavudine et la zidovudine. L'abacavir est alors une alternative intéressante à la stavudine.
- Les anomalies du métabolisme lipidique : toutes les classes d'antirétroviraux, à l'exception de l'enfuvirtide, peuvent modifier les paramètres lipidiques et provoquer une hypertriglycémie ou une hypercholestérolémie totale. Certains antirétroviraux peuvent cependant être moins lipotoxiques tels que le ténofovir (INTI), la névirapine (INNTI) et l'atazanavir (IP).
- Les anomalies du métabolisme glucidique : certains inhibiteurs de protéase, notamment l'indinavir, induisent une insulino-résistance, tout comme certains inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse. Cette insulino-résistance peut alors évoluer en une intolérance au glucose, puis un diabète.

-Risque cardiovasculaire : différentes études ont tenté d'évaluer un sur-risque coronarien pour les patients traités aux ARV depuis plus de deux ans, et en particulier aux IP. Cela s'explique par la présence de nombreux facteurs de risque cardiovasculaire chez ces patients : bilan lipidique perturbé avec diminution du HDL cholestérol et augmentation du LDL-cholestérol, hypertriglycéridémie, toxicité mitochondriale, insulino-résistance, obésité tronculaire. Il est donc important de les identifier et de surveiller les habitudes de vie des patients (tabac, sédentarité, poids, alcool). [29]

-La toxicité mitochondriale des ARV est connue depuis la mise sur le marché de l'AZT, et reste au centre des préoccupations concernant leur toxicité. Elle peut se présenter comme une toxicité d'organe et/ou une toxicité générale, dont la forme la plus grave est l'acidose lactique. Les mécanismes de vieillissement accéléré, la diminution des capacités globales de l'individu, la fatigabilité musculaire et sexuelle sont imputables à la toxicité mitochondriale.

-Complications hépatiques : tous les ARV sont potentiellement hépatotoxiques et plus particulièrement le ritonavir et la nevirapine qui sont susceptibles de provoquer une élévation des transaminases et une hépatite clinique.

4.Prévention : [19]

Au niveau individuel, on peut réduire le risque d'infection par le HIV en limitant l'exposition aux facteurs de risque. La prévention de la transmission sexuelle combine plusieurs approches. Les principales démarches de prévention de l'infection par le HIV, souvent utilisées de manière combinée, sont :

- Utilisation du préservatif masculin ou féminin.
- Dépistage de l'infection par le HIV et des autres IST.
- Circoncision médicale volontaire de l'homme.
- Réduction des risques pour les consommateurs de drogues par injection.
- Elimination de la transmission mère-enfant TME
- Traitement antirétroviral des individus séropositifs pour le HIV comme prévention TASP.
- Prophylaxie pré-exposition (PrEP) pour un individu séronégatif.
- Prophylaxie post-exposition pour un individu séronégatif.

B. DISCUSSION DES RESULTATS :

A la fin de l'année 2020, l'ONUSIDA estimait que près de 37 millions de personnes vivaient avec le HIV et que 1.8 millions étaient nouvellement infectés par ce virus dans la même année. [1]

Le Maroc est un pays où la prévalence de l'HIV chez l'adulte est faible (0.08%). En 2020, les estimations de l'épidémie était de 22 000 patients vivants avec l'HIV (adultes, Enfants) dont 730 nouvelles infections, 420 décès avec une couverture par les antirviraux estimée à 75% et un taux de rétention >96%. [28]

Les lignes directrices du diagnostic des infections par l'HIV du CDC ont été mises à jour en 2014. Pour résumer le nouvel algorithme, le test devrait commencer par un essai immunologique combiné. Tous les échantillons réactifs à ce test initial sont confirmés par un test supplémentaire de confirmation et de différenciation. [4]

Dans l'intervalle, avant la publication des lignes directrices mises à jour, la FDA avait approuvé divers tests immunologiques améliorés, dont un qui peut différencier les anticorps anti-HIV-1 des anti-HIV-2, tel que Geenius qui a été mis au point comme test de confirmation supplémentaire pour améliorer la précision diagnostique de l'infection par le HIV. [6]

Au Maroc, le dépistage de l'infection à HIV constitue un des objectifs majeurs des programmes nationaux de lutte contre le HIV SIDA. Cela permet de réduire le nombre de personnes ne connaissant pas leur statut sérologique, de diagnostiquer précocement les personnes séropositives et à terme de réduire la transmission de l'infection à HIV. Selon l'algorithme national, la stratégie du diagnostic repose sur la combinaison d'un test de dépistage hautement sensible (> 99,98%) (Test Rapide, ELISA et apparentées), suivi d'un test de confirmation plus spécifique (> 99,98%) (Western Blot WB ou Immuno Blot IB). [22]

Le test ELISA est le test sérologique de dépistage de référence. Les tests actuels dits mixtes et combinés de 4^{ème} génération [21], détectent les anti-HIV-1 et -2 ainsi que l'Ag p24 du HIV-1 avec un seuil minimal de détection de 2 UI/ml [3-21]. Ainsi l'adjonction de la recherche combinée de l'Ag p24 dans ces tests a permis d'augmenter leur sensibilité et leur spécificité et de réduire la fenêtre sérologique augmentant ainsi les chances de détection précoce de

l'infection par l'HIV [3-22]. Mais il y'a toujours un risque de faux positif, d'où l'intérêt des tests de confirmation avant d'annoncer la séropositivité aux patients.

Le test WB permet de confirmer la séropositivité mais également de préciser la cinétique d'apparition des anticorps : les premiers à apparaître sont ceux dirigés contre les protéines de l'enveloppe (gp160, gp120, gp41), le profil se complète ensuite en quelques semaines [30]. Cette étude a fourni grâce aux tests WB et Geenius des informations sur le profil sérologique des 48 patients séropositifs au HIV dont 47 étaient positifs au HIV-1 et un seul cas de HIV-2. La réactivité avec toutes les bandes était le schéma le plus observé, dans 54 % (25/47) des échantillons, résultats similaires retrouvés dans une étude marocaine [30] et une étude indienne [10], ce qui nous mène à suggérer une corrélation entre la positivité des différentes bandesprotéines de l'HIV-1 et le stade clinique de révélation de la maladie qui est le plus souvent retardé. En effet, le profil WB est le plus souvent complet, à l'exception de certaines situations essentiellement au stade précoce et terminal de l'infection à HIV, [30]

Les 46 % restants présentaient des schémas de bandes différents ; parmi toutes les bandes individuelles, la bande p55 était la bande manquante la plus fréquente, étant absente dans 40% des échantillons, suivie par les autres bandes p17, p51 et p31 qui manquaient dans 21%,15% et 4% des cas respectivement. Ce schéma de bandes est similaire à celui observé dans plusieurs études où la bande réactive p55 était la protéine la plus fréquemment indétectable, contrairement à une étude indienne [31] où la p31 était la bande la plus fréquemment absente. La perte de la réaction anticorps anti-HIV-1 a été décrite chez les patients ayant un stade avancé de l'infection, très probablement du fait à l'immunodépression majeure avec l'évolution de la maladie.

Les performances du Geenius ont été comparées à celles du WB et sa sensibilité a été évaluée en testant 48 échantillons HIV positifs par le WB; tous ces échantillons ont été confirmés HIV positifs par le Geenius, soit une sensibilité de 100 %. Toutefois, nous avons noté un manque de sensibilité des bandes p24 et p31 du Geenius par rapport au WB mais ceci ne change pas l'interprétation finale des résultats entre les deux tests.

Des résultats de performance similaires ont également été rapportés par d'autres études notamment américaines, canadienne. De même une étude Belge a montré que 44 échantillons HIV positifs ont tous été confirmés par Geenius [32]. Des études plus vastes menées au Japon [33] et en Israël [5] ont démontré des résultats plus sensibles que WB.

Le test Geenius présente des avantages par rapport au WB. Le protocole du Geenius est simple, facile et rapide, il permet de traiter les patients en unitaire avec un gain de temps considérable et minimise également le risque de contamination en utilisant un dispositif fermé séparé pour chaque échantillon. L'utilisation d'un code-barres pour l'échantillon et la cassette réduit les erreurs. La lecture visuelle peut entraîner une certaine variabilité dans la conclusion finale chez deux techniciens liée à la subjectivité de l'interprétation visuelle. Cette subjectivité interpersonnel est minimisée par la capture et l'analyse automatisée de la cassette par le lecteur automatique du Geenius system qui permet également de faire l'interprétation des résultats et garantit la traçabilité et l'archivage numérique des données.

Conclusion

Le réseau de diagnostic de laboratoire de l'HIV est essentiel dans les services de prestation de soins de santé de chaque pays afin d'améliorer la santé de sa population.

En général, le modèle de baguage WB est complexe, sa mise en œuvre et son interprétation nécessite un personnel de laboratoire bien formé, expérimenté et compétent, pour éviter toute mauvaise interprétation. Il nécessite également de travailler les patients en série.

Notre expérience a confirmé que le test Geenius™ HIV 1/2 Confirmatory Assay s'utilise comme un test complémentaire de confirmation de la présence d'anticorps contre l' HIV-1 et 2 chez les individus présentant une réactivité répétable aux tests de dépistage et permet également de différencier les deux types du HIV. Il présente des performances comparables au WB pour la confirmation de la séropositivité des patients avec un gain de temps technique et de remise des résultats considérable.

Bien que cette évaluation porte sur une taille d'échantillon limitée et que d'autres études soient nécessaires pour déterminer le statut des résultats indéterminés, ces résultats restent très prometteurs. Et on conclut donc que Geenius est une alternative acceptable/fiable pour le WB pour la confirmation de l'infection par le HIV.

Résumés

RESUME

Auteur : Zirar Jalila

Titre : Evaluation du Geenius™ HIV 1/2 Confirmatory Assay pour la confirmation de l'infection à HIV.

Mots clés : HIV, Western blot, Geenius, sensibilité, confirmation.

Introduction: La stratégie du diagnostic de l'infection à HIV repose sur la combinaison d'un test de dépistage suivie d'un test de confirmation (Western Blot ou Immuno Blot). Le test unitaire Bio-Rad Geenius™ HIV-1/2 basé sur le principe de l'immunochromatographie a récemment été approuvé par le CDC pour confirmer et différencier les infections à HIV. L'objectif de notre travail est de comparer la sensibilité de Geenius par rapport au WB, afin d'établir si ce dernier est une alternative appropriée au WB.

Matériels et méthodes: Nous avons inclus les échantillons réactifs répétables par le test de dépistage ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo (Abbott) et confirmés par le Western Blot (MP Diagnostics HIV Blot 2.2) en association à un test Geenius™ (HIV 1/2 Confirmatory Assay de Bio-Rad).

Résultats: Parmi les 48 patients ayant une sérologie HIV positive, 47 (98 %) avaient un HIV type 1 et un était un HIV type 2. Tous ces échantillons étaient confirmés séropositifs selon les critères du WB et du Geenius, avec une sensibilité globale de 100% pour le Geenius. Parmi les 47 patients HIV-1, 25 (54%) avaient un profil WB complet et tous étaient positifs HIV-1 par le test Geenius. Toutefois, 12 (soit 27%) avaient un profil incomplet en Geenius.

Les bandes non réactives étaient la p24, p31 et p24+p31 pour 5, 6 et 1 patient respectivement.

Conclusion: Le Geenius est une alternative fiable au WB pour la confirmation de l'infection par l' HIV. Il présente en outre l'avantage d'être unitaire, rapide, et simple d'utilisation.

ABSTRACT

Author: Zirar Jalila

Title: Evaluation of the Geenius™ HIV 1/2 Confirmatory Assay for the confirmation of HIV infection.

Key words: HIV, Western blot, Geenius, sensitivity, confirmation.

Introduction: The strategy for the diagnosis of HIV infection is based on the combination of a screening test followed by a confirmatory test (Western Blot or Immuno Blot). The unitary Bio-Rad Geenius™ HIV-1/2 test based on the principle of immunochromatography has recently been approved by the CDC to confirm and differentiate HIV infections. The objective of our work is to compare the sensitivity of Geenius versus WB to examine whether Geenius is a suitable alternative to WB.

Materials and Methods: We included repeatable ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo (Abbott) and Western Blot (MP Diagnostics HIV Blot 2.2) confirmed reactive specimens in combination with a Geenius™ (HIV 1/2 Confirmatory Assay from Bio-Rad) test.

Results: Of the 48 patients with positive HIV serology, 47 (98%) had HIV type 1 and one was HIV type 2. All of these specimens were confirmed HIV positive by WB and Geenius criteria, with an overall sensitivity of 100% for Geenius.

Of the 47 HIV-1 patients, 25 (54%) had a complete WB profile and all were HIV-1 positive by the Geenius test. However, 12 (27%) had an incomplete Geenius profile.

The non-reactive bands were p24, p31 and p24+p31 for 5, 6 and 1 patient respectively.

Conclusion: Geenius is a reliable alternative to WB for the confirmation of HIV infection. It has the additional advantage of being unitary, rapid, and easy to use.

ملخص

المؤلف: زرار جلييلة

العنوان: تقييم اختبار Geenius™ HIV 1/2 التأكدي لتأكيد الإصابة بفيروس نقص المناعة البشرية.
الكلمات المفتاحية: فيروس نقص المناعة البشرية، Western Blot، Geenius، حساسية، تأكيد.

مقدمة: تعتمد استراتيجية تشخيص عدوى فيروس العوز المناعي البشري على مزيج من اختبار الفحص متبوعاً باختبار تأكيد (Western Blot ou Immuno Blot). تمت الموافقة مؤخرًا على اختبار وحدة Bio-Rad Geenius™ HIV-1/2 على أساس مبدأ الكروماتوغرافيا المناعية من قبل مركز السيطرة على الأمراض لتأكيد وتفريق عدوى فيروس نقص المناعة البشرية. الهدف من عملنا هو مقارنة حساسية Geenius من أجل تحديد ما إذا كان هذا الأخير هو البديل المناسب لتأكيد الإصابة بفيروس نقص المناعة البشرية.

المواد والطرق: قمنا بتضمين العينات التي كانت قابلة للتكرار مع اختبار فحص ARCHITECT HIV Ag / Ab Combo وأكده (MP Diagnostics HIV Blot 2.2) Western Blot بالاشتراك مع اختبار Geenius™ (Bio HIV 1/2 - فحص راد التأكدي).

النتائج: من بين 48 مريضاً مصاباً بمصل إيجابي لفيروس نقص المناعة البشرية، كان 47 (98%) مصابين بفيروس نقص المناعة البشرية من النوع 1 وكان الآخر من النوع الثاني. تم تأكيد جميع هذه العينات على أنها إيجابية المصل وفقاً لمعايير WB و Geenius، مع حساسية إجمالية قدرها 100% لـ Geenius.

من بين 47 مريضاً بفيروس نقص المناعة البشرية -1، كان لدينا 25 (54%) ملف تعريف WB كامل وكان جميعهم مصابين بفيروس HIV-1 بواسطة اختبار Geenius. ومع ذلك، كان لدينا 12 (أو 27%) ملف تعريف غير مكتمل في Geenius.

كانت الأشرطة غير التفاعلية هي p24 و p31 و p31 + p24 عند 5 و 6 و 1 مرضى على التوالي.

الخلاصة: Geenius هو بديل موثوق لتأكيد الإصابة بفيروس نقص المناعة البشرية. كما أنه يتميز بكونه موحداً وسريعاً وسهل الاستخدام.

Références Bibliographiques

1. UNAIDS (2021) Global HIV & AIDS Statistics : 2020 Fact Sheet.
<https://www.unaids.org/en/resources/fact-sheet>.
2. Stratégie nationale sur les droits humains et le HIV/SIDA. Ministère de la santé marocain. 2018-2021.
3. Parekh BS, Ou CY, Fonjungo PN, Kalou MB, Rottinghaus E, Puren A et al. Diagnosis of Human Immunodeficiency Virus Infection. *Clin Microbiol Rev* ; 2019, 32(1).
4. Kondo M, Sudo K, Sano T, Kawahata T, Itoda I, Iwamuro S et al. Comparative evaluation of the Geenius HIV 1/2 Confirmatory Assay and the HIV-1 and HIV-2 Western blots in the Japanese population. *PLoS One* ; 2018, 13(10).
5. Mor O, Mileguir F, Michaeli M, Levy I, Mendelson E. Evaluation of the Bio-Rad Geenius HIV 1/2 Assay as an Alternative to the INNO-LIA HIV 1/2 Assay for Confirmation of HIV Infection. *J Clin Microbiol* ; 2014, 52 : 2677-9.
6. Kusagawa S, Kawana-Tachikawa A, Matsubayashi K, Hoshi Y, Ishimaru K, Hamaguchi I. Evaluation of Geenius HIV-1/2 Confirmatory Assay for the confirmatory and differential diagnosis of HIV-1/HIV-2 in Japan and reliability of the Geenius Reader in the diagnosis of HIV-2. *BMC Infect Dis* ; 2021, 21(1) : 569.
7. Barre-Sinoussi F, Chermann JC, Rey F, et al. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Scie* 1983;220:868-71.
8. Plantier JC, Leoz M, Dickerson JE, et al. A new human immunodeficiency virus derived from gorillas. *Nat Med* 2009; 15:871-2.
9. C. Charpentier, F. Damond, F. Brun-Vézinet, D. Descamps. Virus de l'immunodéficience humaine. Elsevier masson maladies infectieuses 2011 ; 8-050-B-15
10. Seelamgri A, Maddukuri A, Berro R et al. Role of viral regulatory and accessory proteins in HIV-1 replication. *Front biosci* 2004; 9 :2388-413.
11. C. Amiel, V. Schneider. Virus de l'immunodéficience humaine. Elsevier Masson biologie clinique 2011 ; 90-55-0145.
12. Peeters M, Mulanga-Kabeya C, Delaporte E. La diversité génétique du VIRUS HIV1. *Virologie*2000;4:371-81.
13. Plantier JC, Leoz M, Jonathan E, Dickerson JE, De Oliveira F, Cordonnier F, et al. A new human immunodeficiency virus derived from gorillas. *Nat Med*2009;15:871-2
14. Rothe M, Israel N, Barré-Sinoussi F. Mécanismes de la réplication virale des HIV. *Méd Théor* 1996;2:12-8.
15. Weiss RA. HIV receptors and cellular tropism. *IUBM Life* 2002 ; 53 : 201-5
16. Prise en charge de l'infection HIV chez l'enfant, Expérience du centre hospitalier universitaire de Rabat

17. A Vabret, R Verdon, J Brouard. Les maladies virales: symptômes et syndromes. *Vadmeccum des maladies virales*. 2003: 141-9.
18. F Barré-Sinoussi. *Virologie fondamentale de l'infection HIV*. HIV. 2007: 3-10.
19. Thomas MOUREZ, Sonia BURREL, David BOUTOLLEAU, Sylvie PILLET. *TRAITE DE VIROLOGIE MEDICALE*. 2^{ème} édition.
20. X Anglaret, E Mortier. *Infection à HIV*. *Maladie infectieuses*. 2003(3):85-6.
21. Francis B, Charlotte CH. Virus de l'immunodéficience humaine (HIV). In : SFM. *Référentiel en microbiologie médicale (REMIC)*. Paris : Société française de microbiologie, 2018 : 773-85.
22. Hicham OUMZIL, Ouafa BENNANI, Rajae MENGAD et al. Place du test rapide dans la stratégie national de dépistage de l'infection à HIV, *Bulletin de l'institut national d'hygiène marocain*.
23. VIDAL - HIV (infection par le HIV) - Prise en charge [cité 4 avr 2019]. https://www.vidal.fr/recommandations/1783/HIV_infection_par_le/prise_en_charge/#com1c02
24. Blanc A, Bonnet F, Brun-Vezinet F, Costagliola D, Dabis F, Delobel P, et al. Groupe d'experts pour la prise en charge du HIV. 2018;27.
25. Commissioner O of the. HIV/AIDS History of Approvals - HIV/AIDS Historical Time Line 1981-1990 [Internet]. [Cité 4 avr 2019]. Disponible sur: <https://www.fda.gov/forpatients/illness/hivaids/history/ucm151074.htm>
26. Les inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse (partie 1) [Internet]. [Cité 4 avr 2019]. Disponible sur: http://www.pistes.fr/transcriptases/71_1005.htm
27. Drouadaine A. *Le Moniteur des Pharmacies - Cahier 2 N°3155*. 2016.
28. *Guide national de prise en charge de l'infection à HIV chez l'enfant*, Ministère de santé Marocain.
29. FIRTION G. – L'infection HIV chez le nourrisson : diagnostic précoce – *journal de pédiatrie et de puériculture*, n 4, 1995 : 212-215.
30. Admoua B, Zougaghia L, Soraa N, Amine M, Tassi N, Kachach M et al. Profils western-blot et stades cliniques chez les patients séropositifs au HIV au Maroc. *Rev Francoph des Lab* ; 2009, 2009 : 19-22.
31. Sudha T, Lakshmi V, Teja VD. Western blot profile in HIV infection. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* ; 2006, 72 : 357-60
32. Luo W, Sullivan V, Smith T, Peters PJ, Gay C, Westheimer E et al. Performance evaluation of the Bio-Rad Geenius HIV 1/2 supplemental assay. *J Clin Virol* ; 2019, 111 : 24-28.
33. Serhir B, Desjardins C, Doualla-Bell F, Simard M, Tremblay C, Longtin J. Evaluation of the Bio-Rad Geenius HIV 1/2 Assay as Part of a Confirmatory HIV Testing Strategy for

Quebec, Canada: Comparison with Western Blot and Inno-Lia Assays. *J Clin Microbiol* ; 2019, 57(6).