

UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR

\*\*\*\*\*

FACULTE DE MEDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTOLOGIE

ANNEE : 2015



N° d'ordre : 413

**EVALUATION DU TAUX DE TRANSMISSION  
DU VIH DE LA MERE A L'ENFANT ENTRE  
2009 ET 2013 AU MALI**

MEMOIRE

MASTER DE MICROBIOLOGIE FONDAMENTALE ET APPLIQUEE

(UCAD/FMPO)

PRESENTE ET SOUTENU PUBLIQUEMENT LE 01/02/2016

Par : FATOUMATA KONTAO EPOUSE SANOGO

**MEMBRES DU JURY**

<b>Président</b>	: M. Cheikh SAAD BOUH BOYE,	Professeur
<b>Membres</b>	: Mme Ndeye Coumba TOURE KANE,	Professeur
	: Mme Halimatou DIOP NDIAYE,	Maître de Conférences Agrégé
<b>Directrice</b>	: Mme Ndeye Coumba TOURE KANE,	Professeur
<b>Co-Directrice</b>	: Mme Halimatou DIOP NDIAYE,	Maître de Conférences Agrégé

LOUANGES ET GLOIRE A ALLAH CLEMENT ET MISERICORDIEUX.

**« Au nom d'Allah, le Tout Miséricordieux, le Très Miséricordieux. Louange à Allah, Seigneur de l'univers, Maître du Jour de la rétribution. Guide-nous dans le droit chemin, le chemin de ceux que Tu as comblé de faveurs, non pas de ceux qui ont encouru Ta colère, ni des égarés.»**

**Merci Allah le Tout-puissant de m'avoir donné la force d'y croire, la patience d'aller jusqu'au bout du travail .Que les prières et la paix soient sur le sceau du prophète et messenger Sayidona Mohamed**

## Dédicaces

### **JE DEDIE CE TRAVAIL A ...**

A mon mari, mon cher époux Alou SANOGO pour son amour, son soutien constant, son réconfort, sa patience et sa présence dans les meilleurs moments comme dans les plus difficiles. Tu as toujours été à mes côtés durant toutes les deux années du Master et tu m'as appris à surmonter les difficultés pour mener à bien mes études. Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour, puisse Dieu, le Tout puissant ALLAH veiller sur toi et t'accompagner dans tous tes projets.

A notre merveilleux enfant Aboubacar SANOGO puisse Dieu le Tout puissant ALLAH le préserver et l'accorder santé, longue vie, prospérité et que beaucoup de bonheur l'accompagne, amine.

A mes très chers parents mon Papa Hamadoun KONTAO et ma Maman Fatoumata NIENAO, aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que vous méritez pour tous les sacrifices que vous n'avez cessé de me donner depuis ma naissance jusqu' aujourd'hui, si j'en suis arrivée là c'est grâce à vous, à vos prières et vos bénédictions sans oublier votre soutien, votre amour inconditionnel; puisse ALLAH vous guider et vous donner longue vie.

A ma belle-famille particulièrement à Papa et à mes deux mamans pour le soutien, l'encouragement, sans oublier les bénédictions et les prières, merci et qu'ALLAH vous préserve et vous accorde sa bénédiction.

A mes frères et sœurs particulièrement à Mohamed dit vieux, Baba, Ousmane, Yacouba, Kadidiatou dite Mama, Halimata Walet Tamou, Mariam Bouaré et ma nièce Fatoumata Yattara dite Naboni qui m'ont toujours soutenue et encouragée, les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je vous porte. Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.

Au Dr Ibrahim Guindo pour son précieux soutien dans l'accomplissement de ce travail.

Au Dr Adama Sangaré pour sa générosité sans oublier son soutien moral et ses coups de fils pour me donner le courage nécessaire, les remerciements ne seront pas assez.

A papa Mira et sa famille vous m'avez accueillie dans votre demeure et je me suis toujours sentie comme chez moi; Puisse Dieu vous unir et accorder une grande réussite à vos enfants.

A tout le personnel de l'unité de biologie moléculaire de bactériologie virologie, CHU Aristide Le Dantec de Dakar.

A tous mes Maîtres du Master de Microbiologie Fondamentale Appliquée.

A mes aînés du Master de Microbiologie Fondamentale et Appliquée.

Aux collègues du Master de Microbiologie Fondamentale et Appliquée de ma promotion.

A mes cadets du Master de Microbiologie Fondamentale et Appliquée.

A tous mes amis, tous ceux qui m'ont soutenue et encouragée de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

A toutes les mères qui se battent pour éviter la transmission verticale du VIH à leurs progénitures.

Un grand merci à **l'Union Africaine** de pouvoir m'accorder la bourse d'étude sans laquelle je n'aurais pas pu mener ce travail. Puisse ALLAH le Tout puissant bénir **l'Afrique, thanks a lot.**

## A nos Maîtres et Juges

### **Au Professeur** Cheikh SAAD BOUH BOYE

Nous vous sommes infiniment reconnaissants pour l'honneur que vous nous faites en acceptant de présider la soutenance de notre mémoire. Votre grande disponibilité et vos éminentes qualités humaines et intellectuelles sont connues de tous. Veuillez trouver, l'expression de notre profond respect et de nos sincères remerciements.

### **Au Professeur** Mme Ndeye Coumba TOURE KANE

A ma Directrice de mémoire grâce à qui nous avons eu l'opportunité de travailler sur ce sujet de mémoire passionnant. Un grand merci pour votre sympathie, votre rigueur dans le travail, vos solides connaissances scientifiques, votre écoute, votre savoir-faire et votre disponibilité de tous les instants. Nous vous remercions pour l'attention que vous avez portée à la direction de ce travail. Puisse qu'Allah vous guider afin que vous réalisiez tous vos projets.

### **Au Professeur** Halimatou DIOP NDIAYE

Nous vous sommes très reconnaissants pour l'honneur que vous nous faites en acceptant de co-diriger ce travail. La courtoisie et la simplicité avec lesquelles vous nous avez reçus, témoignent de vos immenses qualités humaines. Merci de votre grande disponibilité. Puisse Dieu vous accorder une carrière fructueuse.

## SIGLES ET ABREVIATIONS

3TC	: Lamivudine
AA	: Alimentation Artificiel
ABC	: Abacavir
ADN	: Acide Désoxy Ribonucléique
ADN <sub>c</sub>	: ADN complémentaire
AM	: Allaitement Maternel
AMP	: Allaitement Maternel Protégé
APOBEC3G	: Apo lipoprotein B mRNA-editing, enzyme-catalytic, polypeptide-like 3G
ARN	: Acide Ribonucléique
ARN <sub>g</sub>	: ARN génomique
ARN <sub>m</sub>	: ARN messenger
ARN <sub>t</sub>	: ARN de transfert
ART	: Aerosol Resistant Tips
AZT	: Zidovudine
ca	: capsid
CCR5	: Récepteur à C-C chimiokine de type5
CD4	: Cellule T portant les clusters de différenciation de type4
CDC	: Centers for Disease Control and prevention
CMH	: Complexe Majeur d'Histocompatibilité
CRF	: <i>Circulating Recombinant Forms</i>
CSLS-MSHP	: Comité Sectorielle de Lutte Contre le Sida du Ministère de la Santé et de l'Hygiène Publique
CXCR4	: Récepteur à C-X chimiokine de type4
d4T	: Stavudine
dATP	: Desoxyadenosine Triphosphate
DBS	: Dried Blood Spot
dCTP	: Desoxycytidine Triphosphate
dGTP	: Desoxyguanosine Triphosphate
dNTP	: Desoxynucleotide Triphosphates
DO	: Densité Optique
dTTP	: Desoxythymidine Triphosphate

ELISA	: Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay
<i>Env</i>	: Protéine de l'enveloppe
ESB	: Enceinte de Sécurité Biologique
Gag	: gène des antigènes de groupe
Gor	: Gorille
gp120	: glycoprotéine 120
HAART	: highly active antiretroviral therapy (traitement antirétroviral
hautement actif)	
IC	: Interne Control
IF	: Inhibiteurs de fusion
IMAARV	: Initiative Malienne d'Accès aux Antirétroviraux
INNTI	: Inhibiteur Non Nucléosidique de la Transcriptase Inverse
INRSP	: Institut National de Recherche en Santé Public
INTI	: Inhibiteurs Nucléosidique de la Transcriptase Inverse
IP	: Inhibiteurs de la protéase
LTR	: <i>Long Terminal Repeat</i>
ma	: Matrice
MWP	: Micro well plate
NCP	: Nucléoprotéine
nef	: Negative expression factor
NIP	: Numéro d'Identification du Patient
NP	: Non précisé
NVP	: Névirapine
OMS	: Organisation mondiale de la Santé
ONUSIDA	: Organisation des Nations Unies pour le SIDA
PCR	: Polymerase Chain reaction
Pol	: polymérase
PTME	: Prévention de la Transmission Mère-Enfant
rev	: Regulator of expression virus
RT	: Reverse Transcriptase ou Transcriptase Inverse
RT-PCR	: Reverse Transcription -PCR
SIDA	: Syndrome d'Immuno Déficience Acquisé
SIV	: Virus de l'Immuno Déficience des Singes
SIVcpz	: Virus de l'Immuno Déficience simienne du Chimpanzé

T CD4	: cellules T portants les clusters de différenciation de type 4
TAR	: Traitement Anti Retrovial
tat	: <i>Trans-activator of transcription</i>
TI	: Transcriptase Inverse
TME	: Transmission Mère-Enfant
Vif	: Viral Infectivity Factor
VIH	: Virus de l'Immuno-Déficience Humaine
Vpr	: Viral protein R
Vpu	: Vpu Viral Protein U

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1:</b> Morphologie et structure du VIH .....	6
<b>Figure 2:</b> schéma de l'organisation génomique du VIH- 1 .....	8
<b>Figure 3:</b> cycle de réplication du VIH-1 .....	9
<b>Figure 4:</b> Techniques de prélèvement sur papier buvard .....	27
<b>Figure 5:</b> Etapes du traitement du papier buvard .....	28
<b>Figure 6:</b> DBS de bonne qualité du CHU GT .....	29
<b>Figure 7:</b> répartition des enfants selon le nombre de PCR.....	33
<b>Figure 8:</b> Evolution des enfants et prélèvements reçus par les années.....	34
<b>Figure 9:</b> Répartition des enfants en fonction du sexe .....	34
<b>Figure 10:</b> taux de TME du VIH par an entre 2009 et 2013 .....	38
<b>Figure 11:</b> Taux de transmission en fonction des schémas prophylactiques des enfants infectés .....	41

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau I:</b> Critères de réalisation d'un diagnostic présomptif d'une infection à VIH chez les enfants de moins de 18 mois lorsque les tests virologiques ne sont pas disponibles ...	13
<b>Tableau II:</b> Différentes options pour le programme PTME .....	18
<b>Tableau III:</b> Le traitement antirétroviral en fonction de la situation de la femme enceinte séropositive au VIH.....	20
<b>Tableau IV:</b> Les mesures médicamenteuses (ARV) préconisées en fonction de l'option d'alimentation du nouveau-né .....	21
<b>Tableau V:</b> Distribution des enfants par tranche d'âge de 2009 à 2013 .....	35
<b>Tableau VI:</b> Prise en charge, Evolution des schémas prophylactiques et Mode d'alimentation des enfants nés de mères séropositives.....	35
<b>Tableau VII:</b> Complétude des données par année et selon les caractéristiques prophylactiques et le mode d'alimentation. ....	37
<b>Tableau VIII:</b> Le taux de TME selon les caractéristiques des enfants infectés.....	40

# SOMMAIRE

<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>1</b>
<b>PREMIERE PARTIE :.....</b>	<b>4</b>
<b>REVUE BIBLIOGRAPHIQUE .....</b>	<b>4</b>
<b>Chapitre I: Généralités sur le VIH .....</b>	<b>5</b>
1- Définition et Classification.....	5
2- Structure et Cycle de réplication viral :.....	6
2-1-Morphologie du virus : .....	6
2-2- Organisation génomique du virus : .....	8
2-3-Cycle de réplication du VIH : .....	8
3- Epidémiologie de l'infection à VIH .....	10
3-1-Histoire naturelle de l'infection à VIH chez l'enfant .....	10
3-2- Modes de transmissions du VIH : .....	11
4-Diagnostic de l'infection à VIH : .....	12
4-1- Diagnostic clinique.....	12
4-2-Diagnostic direct ou biologique .....	13
4-3-Place du DBS dans le diagnostic précoce de l'infection à VIH/SIDA.....	16
5-Traitement par les antirétroviraux .....	16
<b>CHAPITRE II: prévention de la TME.....</b>	<b>17</b>
1-Définition .....	17
2- Objectif.....	17
3- Stratégies d'intervention par le programme de la prévention de la TME au Mali.....	19
<b>DEUXIEME PARTIE : TRAVAIL EXPERIMENTAL .....</b>	<b>23</b>
<b>CHAPITRE I: .....</b>	<b>23</b>
1-Contexte et justification: .....	24
<b>2-Objectifs de l'étude: .....</b>	<b>25</b>
□OBJECTIF GENERAL.....	25
□OBJECTIFS SPECIFIQUES .....	25
<b>CHAPITRE II: Approche méthodologique:.....</b>	<b>26</b>
1-Cadre de l'étude .....	26
2-Population d'étude.....	26

3-Échantillonnage .....	26
4-Variables étudiées .....	26
5- Matériel et techniques de collecte : .....	27
6-Analyse statistique des données générées .....	31
<b>CHAPITRE III: Résultats .....</b>	<b>32</b>
1-Provenance des enfants et répartition des prélèvements sur le territoire: .....	32
2-Répartition des enfants selon les caractères sociodémographiques et prophylactiques ....	34
3-Résultats biologiques.....	38
3-1-Taux global de transmission mère-enfant (TME) du VIH .....	38
3-2-Taux de transmission mères-enfants du VIH selon les caractéristiques sociodémographiques et prophylactiques des enfants infectés .....	39
<b>CHAPITRE IV : Discussion .....</b>	<b>42</b>
<b>CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS .....</b>	<b>43</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>43</b>
<b>ANNEXES.....</b>	<b>43</b>

# **INTRODUCTION**

Le SIDA, Syndrome de l'Immunodéficience Acquis, est une maladie infectieuse virale transmissible par voie sexuelle, sanguine et de la mère infectée à son enfant de façon verticale. L'agent étiologique de ce syndrome fut isolé en 1983 successivement il s'agit du VIH-1 ou virus de l'immunodéficience humaine d'abord connu sous le nom de LAV pour Lymphadenopathy Associated Virus (**Barre Sinoussi et al., 1983**). En 1985, un second virus, le VIH-2 proche mais distinct génétiquement et qui semble moins agressif pour l'organisme que son prédécesseur fut isolé et décrit en 1986 (**Barin et al., 1985 ; Clavel et al., 1986**).

L'infection par le VIH est un véritable problème de santé publique. En effet selon ONUSIDA, le nombre de personnes (adultes et enfants) vivant avec le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) à travers le monde est estimé à 36.9 millions [34.3 millions – 41.4 millions] en fin 2014. Les enfants âgés de moins de 15 ans représentaient 2.6 millions [2.4 millions – 2.8 millions]. L'épidémie pédiatrique touche beaucoup plus l'Afrique subsaharienne avec 2.3 millions [2.2 millions – 2.5 millions] d'enfants infectés (**ONUSIDA, 2015**). La transmission Mère Enfant (TME) du VIH constitue la voie de contamination la plus fréquente. Bien que beaucoup d'efforts aient été constatés dans les programmes de prévention de la transmission mère-enfant (PTME), la TME reste à ce jour une réalité dans les pays à ressources limitées alors qu'elle est pratiquement éliminée aux Etats-Unis et en Europe. Des besoins importants en services de prévention de la TME du VIH non couverts sont encore visibles en Afrique au sud du Sahara avec plus de 90% de infections à VIH pédiatrique résultent pour la plupart d'une transmission de la mère à l'enfant (TME). La TME est liée à une prévalence élevée de ce virus chez les femmes en âge de procréer (**OMS, 2013**). La plupart des infections à VIH de la mère à l'enfant surviennent sans intervention au cours de la grossesse et de l'accouchement (15 à 30%), ou durant l'allaitement (10 à 20%). (**Rapport ONUSIDA, 2014**).

L'élimination de la transmission mère-enfant du VIH constitue une des interventions prioritaires de la stratégie internationale et des pays pour une riposte efficace contre l'épidémie du VIH et le Sida. En effet, la prévention a permis une baisse significative de la TME de 25,8% en 2009 à 15,7% en 2014 dans le monde (**ONUSIDA, 2014**). Les stratégies de prévention combinent l'administration d'antirétroviraux pendant la grossesse et l'allaitement. D'importants efforts sont en train d'être menés dans les pays en développement pour atteindre les objectifs pour 2015 à savoir une élimination de la transmission verticale du VIH (**ONUSIDA, 2010**). Le succès des programmes PTME peuvent conduire à des taux <5% dans

certaines sites de recherche et de santé publique en Afrique subsaharienne (**Tejiokem et al., 2011**).

Au Mali, le programme de prévention de la transmission mère-enfant a démarré en 2001 et a connu depuis des avancées significatives. Ceci s'est manifesté à travers l'augmentation des sites qui sont passés de 1 site en 2001 à 338 en 2011. L'extension des sites a permis d'accroître le nombre de femme enceintes dépistées lors des consultations prénatales et par conséquent le nombre de femmes enceintes séropositives qui reçoivent les ARV pour prévenir la transmission mère –enfant du VIH. En vue d'une élimination de la TME sur le territoire de par les objectifs de 2015. Les données programmatiques de l'année 2011 ont été utilisées pour la revue PTME car elles reflètent mieux la réalité de la situation sanitaire du pays (2012 ayant été une année de crise, et les données de 2013 non encore validées au moment de la revue) (**Plan d'élimination de la transmission du VIH de la Mère-enfant du Mali (2015-2019) ., avril 2014**). Cependant le taux de transmission à partir de diagnostic précoce n'a pas été évalué pour voir les performances du programme. .

Pour répondre à cette préoccupation, nous avons entrepris dans ce travail de mémoire de Master dont l'objectif général est d'évaluer le taux de transmission (TME) entre 2009 et 2013 et déterminer les facteurs associés en se basant sur les résultats du diagnostic précoce. Le présent manuscrit est structuré comme suit : Il sera abordé une revue de la littérature axée sur les généralités du VIH. Elle sera suivie d'une partie sur la prévention de la transmission de la mère à l'enfant. La deuxième partie de ce manuscrit sera consacré à la présentation des résultats seront discutés avec les données de la littérature. Enfin des recommandations visant à améliorer la PTME seront formulées avant de décliner quelques perspectives.

**PREMIÈRE PARTIE :**  
**REVUE BIBLIOGRAPHIQUE**

# Chapitre I: Généralités sur le VIH

## 1- Définition et Classification

– Le VIH est classé dans le genre des *Lentivirus* des primates de la famille des *Retroviridae* (ou rétrovirus) et la sous famille des *Orthoretrovirineae* responsables de pathologies à évolution lente. Les *Retroviridae* sont représentés par une large famille de virus dont le matériel génétique est composé d'ARN monocaténaire. Ils sont définis par leur mode de réplication qui passe par une étape de rétrotranscription de leur matériel génétique constitué de deux molécules d'ARN identiques en ADN. Cette étape obligatoire à la multiplication du virus est possible grâce à une enzyme qui entre dans la structure du virus : la transcriptase inverse (TI) ou reverse transcriptase (RT). L'ADN néoformé, est intégré dans le génome de la cellule hôte qui se comporte comme partie intégrante de ce dernier et se réplique en même temps que lui (**Coffin J et coll., 2003**). Ainsi il est transmis aux cellules descendantes à chaque mitose.

Deux types de VIH sont actuellement décrits comme agents étiologiques du sida chez l'homme :

- **Le VIH-1**, proche des virus SIVcpz et SIVgor infectant naturellement les chimpanzés (*Pan troglodytes troglodytes*) et les gorilles (*Gorilla gorilla*) de la partie occidentale de l'Afrique centrale (**Peeters et Chaix, 2013**).

- **Le VIH-2**, proche des virus SIVsmm retrouvés chez les mangabeys enfumés (*Cercocebus atys*) d'Afrique de l'Ouest (**Peeters M et Chaix ML, 2013**).

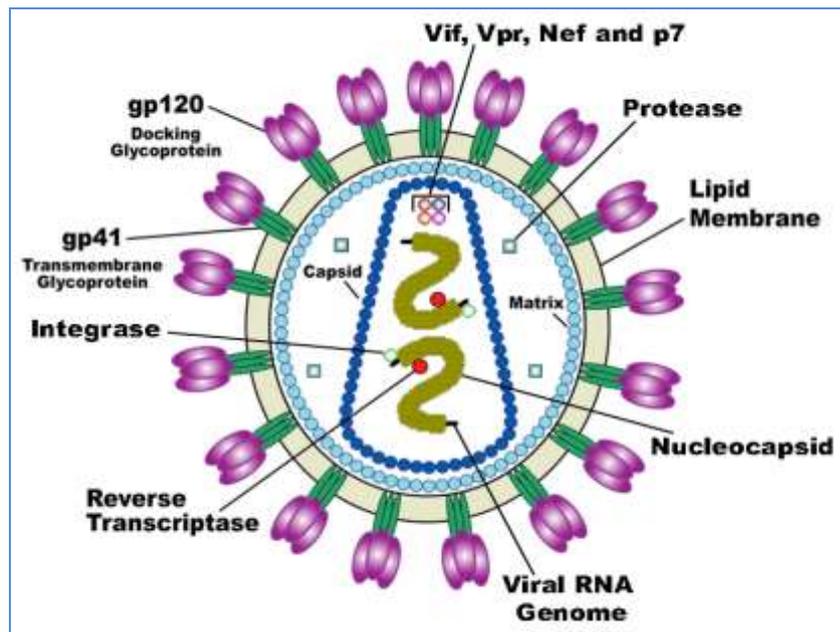
Les virus du VIH-1 sont classés en quatre groupes. Le groupe M ou majeur responsable de la pandémie actuelle, le groupe O ou Outlier (divergeant), le groupe N ou non O, non M et le groupe P décrit en 2009 (**Plantier et al., 2009**). Les trois derniers groupes sont rares et retrouvés quasi exclusivement chez les patients originaires d'Afrique Centrale (**Vallari A et al., 2011**). Le Cameroun qui constitue le seul pays où les 4 groupes coexistent, présente la diversité génétique du VIH la plus grande, incluant les formes recombinantes (**Ndung'u T et Weiss RA, 2012**).

Le groupe M est subdivisé en 9 sous-types purs ou clades et plusieurs formes recombinantes ou CRFS. Les 9 sous types purs du VIH-1 sont nommés : A, B, C, D, F, G, H, J, K. (**Gao F et al., 2001**).

## 2- Structure et Cycle de réplication viral :

### 2-1-Morphologie du virus :

Au microscope électronique, les virus VIH-1 et VIH-2 matures, se présentent sous forme de particules sphériques de 80 à 120 nm qui sont produits par bourgeonnement à la surface des cellules infectées. Il est constitué de l'extérieur vers l'intérieur d'une enveloppe, d'une matrice, d'une capsid et du génome (cf. figure 1).



**Figure 1:** Morphologie et structure du VIH [www.niaid.nih.gov/factsheets/howhiv.htm](http://www.niaid.nih.gov/factsheets/howhiv.htm)  
(consulté le 17/03/2015)

✓ **L'enveloppe virale :**

Elle est constituée d'une bicouche phospholipidique et de deux sortes de glycoprotéines : la gp120su et gp41tm. La molécule gp41 traverse la bicouche lipidique tandis que la molécule gp120 occupe une position plus périphérique. La gp120 a une affinité avec la molécule membranaire CD4 des cellules hôtes. L'enveloppe virale dérive de la cellule hôte et contient ainsi des protéines membranaires de cette dernière parmi lesquelles les antigènes du CMH (complexe majeur d'histocompatibilité), l'actine et l'ibiquitine (**Arthur LO et al., 1992**). Pour le VIH-2, les équivalents respectifs des glycoprotéines gp120 et gp41 sont la gp125 et de la gp36.

✓ **La matrice :**

Elle est Collée à l'enveloppe, elle se compose d'environ 2000 copies de la protéine ma codée par le gène *gag*. Elle est liée à la surface interne de l'enveloppe par l'intermédiaire d'un acide myristique et stabilise la structure du virus. Elle sépare physiquement l'enveloppe de la capsid virale.

✓ **La capsid :**

De symétrie conique, elle est localisée au centre de la particule du virus et protège l'ARN viral. Elle est constituée d'environ 2000 copies de la protéine codée par le gène *gag*. Elle est constituée de :

- La nucléocapsid ou core, constituée principalement de 2000 molécules de la protéine basique, enveloppant le génome pour former un complexe ribonucleoproteique.
- Trois enzymes : la protéase PR, la transcriptase inverse RT et l'intégrase IN.

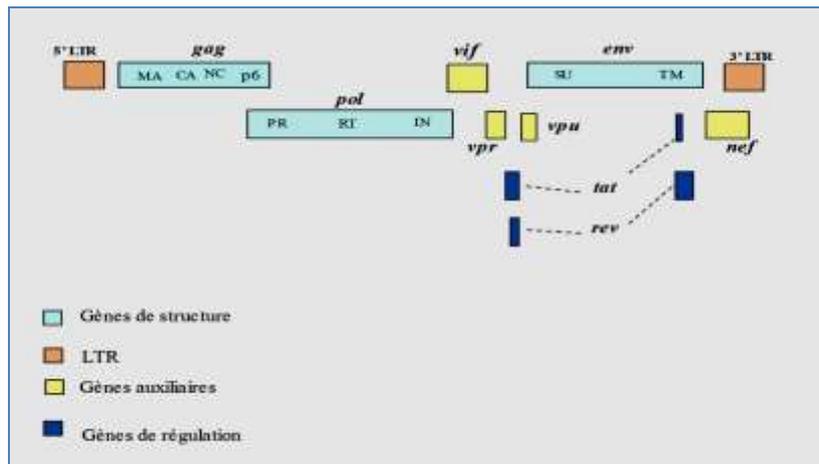
D'autres éléments comme la protéine, nécessaire au passage du génome viral dans le noyau de la cellule infectée et la protéase PR qui permet la maturation de la particule virale après son bourgeonnement, sont également présents dans la particule virale (**Turner BG et Summers MF, 1999**).

✓ **Le génome :**

Le génome est constitué de deux copies identiques d'ARN simple brin, linéaire codant pour les protéines structurales et les protéines non structurales.

## 2-2- Organisation génomique du virus :

Elle fait apparaître trois gènes : *Pol*, *Gag* et *Env* qui codent respectivement les protéines internes du virion, les enzymes nécessaires à la réplication et les protéines de surface. Ils sont associés à des gènes de régulation nommés *tat*, *rev*, *nef*, *vif*, *vpu*, *vpr* dont les protéines correspondantes sont impliquées dans des phénomènes de régulation de l'expression des protéines virales (cf. figure 2)



**Figure 2:** schéma de l'organisation génomique du VIH- 1 adapté de **Amiel C et al., 2011**

## 2-3-Cycle de réplication du VIH :

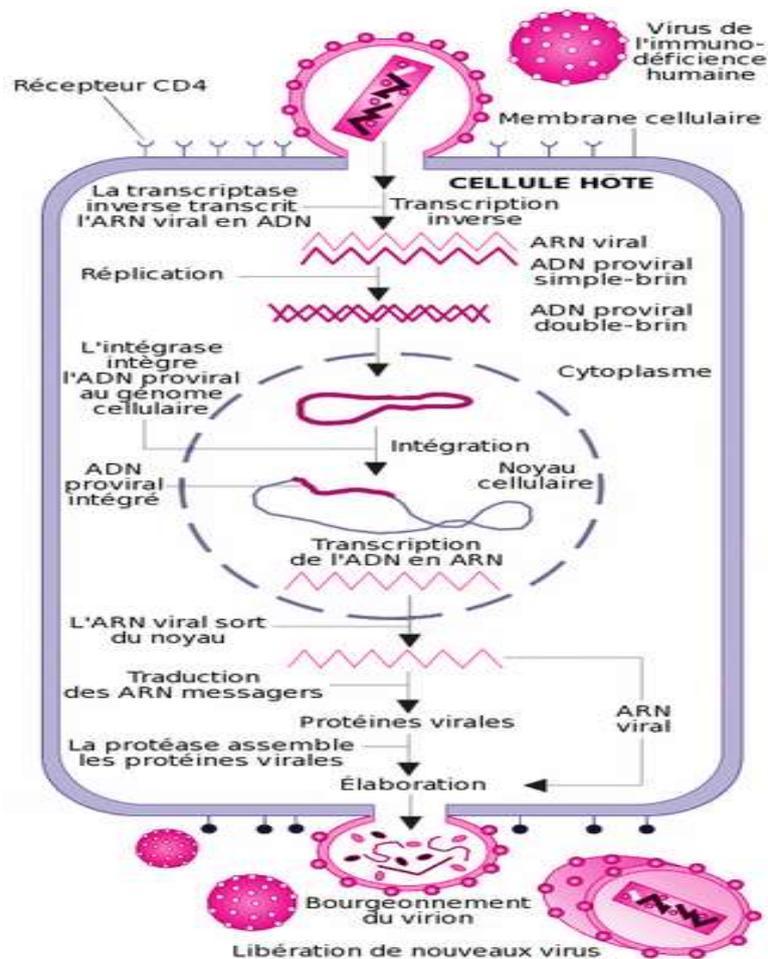
Les cellules cibles du VIH sont les lymphocytes T-CD4, les macrophages, les cellules dendritiques, les cellules de Langherans et les cellules de la microglie (*Girard PM et al., 2011*).

Par sa gp120, le VIH s'adsorbe à la surface des cellules cibles, précisément sur le *Cluster différenciation 4 (CD4)* ; d'autres corécepteurs (*CCR5, CXCR4*) interviennent dans cette fixation. Lors de la pénétration par fusion-lyse, la gp41 intervient.

Une fois dans la cellule, la décapsidation se fait et l'ARN monocaténaire viral libéré dans le cytoplasme cellulaire est rétrotranscrit en ADN bicaténaire viral (ADNv) par la RT. Par la suite, cet ADN est importé dans le noyau cellulaire où il est intégré grâce à l'Intégrase virale : il est alors appelé ADN proviral. Le VIH peut rester à vie sous cette forme dans le noyau des cellules infectées ou répliquer.

Lors de l'étape de la réplication, le provirus est transcrit en ARN messagers viraux (ARNmv) et ARN génomiques par l'ARN polymérase II de la cellule hôte. Les ARNm sont alors

traduits en protéines virales structurales et non structurales. La dernière étape du cycle conduit à la formation de nouveaux virions. Les polyprotéines sont maturées en protéines virales suite à leur clivage par la protéase virale. Les protéines régulatrices, l'ARN génomique, la RT et l'Intégrase sont encapsidés et donnent les virions fils qui vont bourgeonner à la surface de la cellule infectée. Ainsi libérés dans le milieu extracellulaire, ces virus fils vont infecter de nouvelles cellules cibles. (cf. figure 3)



**Figure 3:** cycle de réplication du VIH-1

[https://fr.wikipedia.org/wiki/Virus\\_de\\_l'immunod%C3%A9ficience\\_humaine](https://fr.wikipedia.org/wiki/Virus_de_l'immunod%C3%A9ficience_humaine)

(Consulté le 07/01/2016)

### **3- Epidémiologie de l'infection à VIH**

Le VIH se propage sous forme d'épidémie à travers le monde. La contamination survient par des voies d'entrées qui déterminent les modes de transmission.

#### **3-1-Histoire naturelle de l'infection à VIH chez l'enfant**

Elle se rapporte à l'évolution de l'infection à VIH en l'absence de toute intervention pouvant retarder la progression vers la maladie. Dans son ensemble, l'infection à VIH de l'enfant n'est guère différente de celle de l'adulte. Le déficit immunitaire sévère aboutit aux mêmes complications infectieuses.(**Chakraborty, R., 2005**).

##### **✓ Forme rapidement évolutive**

Elle concerne environ 15 % (**Mayaux M.J. et al., 1996**) des enfants infectés et se caractérise par la constitution, en quelques mois, d'un déficit immunitaire sévère qui touche, en général, aussi bien l'immunité cellulaire que l'immunité humorale. Les premiers symptômes notés entre 1 et 3 mois sont une hépatosplénomégalie ou des adénopathies notamment axillaires. Le délai d'apparition du SIDA est estimé entre 3 et 5 mois. Les complications infectieuses sévères de type opportuniste sont précoces, voire inaugurales (mycose œsophagienne ou pneumocystose pulmonaire le plus souvent). La complication spécifique de cette situation est l'encéphalopathie (**Chakraborty R., 2005**). En l'absence de traitement antirétroviral, les signes neurologiques s'aggravent progressivement et le décès survient en général avant l'âge de 4 ou 5 ans.

##### **✓ Forme lentement évolutive**

Chez 80% des enfants infectés, les perturbations immunitaires significatives n'apparaissent qu'après plusieurs années d'évolution (**Blanche S. et al., 1997**), parfois même après l'âge de 10 ou 15 ans. La symptomatologie clinique peut débuter assez précocement, avant l'âge de 6 mois, sous forme d'une polyadénopathie, avec ou sans hépato splénomégalie, mais ces symptômes restent stables ou même disparaissent pour faire place à une longue période asymptomatique. Les complications infectieuses entraînent la lente dégradation du statut immunitaire. Des infections bactériennes, ORL ou bronchiques, sont observées dans un premier temps puis, lorsque le taux de lymphocytes TCD4+ est effondré, surviennent des infections opportunistes identiques à celles de l'adulte. L'atteinte neurologique ne prend pas la forme de l'encéphalopathie du nourrisson mais correspond plutôt à ce qu'est observé chez

l'adulte en situation de déficit immunitaire sévère. La progression en termes de mortalité et de morbidité est similaire à long terme à celle des adultes infectés par le VIH et la survie moyenne est de 95 % à 5ans en l'absence de TARV mais imprécise à plus long terme.

Quelle que soit la forme clinique, le diagnostic de l'infection à VIH ne peut être posé que par la biologie.

### **3-2- Modes de transmissions du VIH :**

Il existe plusieurs modes de transmission du VIH. Les plus connus sont :

- **La transmission sexuelle**, par contact entre les muqueuses vaginales, rectale et les sécrétions sexuelles ou du sang contaminé (**Belec L., 2007**)
- **La transmission par voie sanguine**, par partage de matériel d'injection de drogues contaminé, d'accidents par exposition au sang ou par transfusion de sang contaminé.
- **Transmission mère-enfant**

La transmission mère-enfant du VIH ou transmission verticale représente la principale cause de l'infection pédiatrique. En effet, plus de 25% des enfants nés de mères séropositives deviennent infectés par le VIH en l'absence de prophylaxie ARV dans les pays en voie de développement (**Mofenson L.M., 2010**) La transmission du virus à l'enfant a lieu principalement en fin de grossesse (un tiers des cas) et autour de l'accouchement (2 tiers des cas) (**Rouzioux, C. et al., 1995**). La transmission peut survenir *in utero* dans les semaines précédant l'accouchement ou *ante partum, intra partum* pendant l'accouchement, et en *post partum* pendant l'allaitement ( **Neubert J. et al., 2013**).

- **Transmission *in utero***

Le placenta constitue en soi une barrière active contre le passage du virus. Cependant elle peut être prise en défaut lors d'une infection d'origine virale bactérienne ou parasitaire. Ces infections diminuent la fonction protectrice du placenta et augmentent le risque de transmission du VIH pendant la grossesse. Une affection de la cavité amniotique peut favoriser la transmission *in utero* ainsi qu'une répllication virale maternelle très élevée liée à une situation de primo-infection où à un stade avancé de la maladie. Les cellules maternelles infectées telles que les macrophages placentaires peuvent être diffusées au travers de brèches de la barrière trophoblastique au cours des échanges sanguins fœto-maternels (**Girard P.M., et al., 2011**).

- **Transmission au cours de l'accouchement**

La contamination par le VIH intervient en majorité en *per-partum*, lors du passage de l'enfant dans la filière génitale probablement liée aux micro-transfusions materno-foetales fréquentes durant le travail. Par ailleurs, les sécrétions vaginales contiennent du VIH sous forme de cellules infectées et de particules virales libres au contact desquelles l'enfant peut être infecté lors de l'accouchement par voie basse. Les échanges sanguins fœto-maternels se poursuivent jusqu'à ce que le cordon ombilical soit coupé. Là encore, le niveau de répllication virale chez la mère est le facteur de risque essentiel de contamination de l'enfant bien qu'il n'y ait pas de valeur seuil en-dessous de laquelle la transmission serait nulle (**Jourdain G. et al., 2007**).

- **Transmission par le lait maternel**

La transmission post-natale du VIH peut survenir au cours de l'allaitement de l'enfant. Le lait maternel contient des virus libres et des cellules infectées. Le risque de transmission est important dans les premières semaines et persiste pendant toute la durée de l'allaitement. L'allaitement occasionne quelque fois des crevasses au niveau du sein. Les ulcérations buccales possibles chez l'enfant peuvent favoriser la transmission de ce dernier exposé par le sang de la mère. Plusieurs travaux menés en Afrique ont montré que le taux de transmission était deux fois plus élevé chez les enfants allaités au sein, l'allaitement artificiel étant le seul moyen d'éviter tout risque de transmission postnatale (**Chasela C.S. et al., 2010**). La transmission *post partum* demeure problématique dans les pays en voie de développement, où il n'est pas toujours possible de recourir à l'allaitement artificiel en raison de son coût élevé, du manque d'eau potable et des normes sociétales.

Ces différentes voies de transmission ont déterminé la diffusion du VIH et sa rapidité d'expansion sur tous les continents.

#### **4-Diagnostic de l'infection à VIH :**

##### **4-1- Diagnostic clinique**

La répllication virale chez les enfants est plus élevée que chez l'adulte. Il en résulte une grande destruction des lymphocytes TCD4+ chez les enfants et une progression plus rapide vers la maladie. La plupart des enfants sont asymptomatiques à la naissance et n'ont pas d'anomalies visibles (**Sagar A. and Vasudevan B., 2012**). Un diagnostic présomptif doit donc être effectué. L'OMS a décrit quelques critères cliniques pour un diagnostic de

présomption d'une infection par le VIH chez les enfants de moins de 18 mois donnés dans le tableau I.

**Tableau I:** Critères de réalisation d'un diagnostic présomptif d'une infection à VIH chez les enfants de moins de 18 mois lorsque les tests virologiques ne sont pas disponibles (OMS, 2010)

<p>Un diagnostic présomptif d'une infection à VIH doit être effectué si :</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• L'enfant a des anticorps anti-VIH et</li><li>• Le diagnostic de tout autre indicateur de l'infection effectué</li></ul> <p>Ou</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• L'enfant est symptomatique avec deux ou plusieurs des indicateurs suivants</li></ul> <ul style="list-style-type: none"><li>- Muguet</li><li>- Pneumonie sévère</li><li>- Infection sévère</li></ul> <p>Autres facteurs indicateurs d'une infection à VIH chez un enfant séropositif</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Décès récent de la mère lié au VIH ; ou stade avancé de l'infection à VIH maternelle</li><li>• Taux de lymphocytes T CD4+ &lt; 20%</li></ul> <p>Une confirmation de l'infection doit être envisagée aussi tôt que possible</p>
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

#### **4-2-Diagnostic direct ou biologique**

Les tests directs font appel à des techniques de détection directe du virus, des protéines ou du génome viral soit par culture cellulaire, ou par diverses techniques de biologie moléculaire dont la PCR.

##### **✓ Antigène p24**

L'antigène p24 est un marqueur direct de l'infection à VIH. L'intérêt de sa recherche porte sur le diagnostic de l'infection avant la séroconversion des anticorps qui survient vers la sixième semaine. En effet, les anticorps sont indétectables au cours de la primo-infection.

### ✓ **Recherche du virus par culture cellulaire**

La culture cellulaire consiste à isoler le virus à partir de lignées de cellules mononuclées dont le génome renferme l'ADN proviral du VIH. Les cellules TCD4, étant la cible des VIH, peuvent être prises à visée de culture. En effet une variante de la culture virale est fondée sur la purification des cellules TCD4 et leur activation. La présence du virus dans les lymphocytes est décelée par détection de la réplication virale en mesurant l'AgP24 ou une activité transcriptase reverse. Cette culture est fastidieuse et nécessite des laboratoires spécialisés.

### ✓ **Diagnostic moléculaire par amplification génique**

Il est effectué grâce à des techniques permettant de détecter le matériel génétique viral. La recherche de l'ADN dans les cellules blanches et de l'ARN (**Cunningham C.K. et al., 1999**) dans le plasma sont les méthodes moléculaires utilisées pour réaliser le diagnostic de l'infection à VIH chez l'enfant de moins de 18 mois (**Young N.L. et al., 2000**). Cela permet aussi de clarifier une sérologie douteuse. Plusieurs méthodes ont été mises au point pour amplifier soit une séquence d'ADN, soit une séquence d'ARN. La plus utilisée des méthodes d'amplification sélective est la polymérisation en chaîne (PCR).

#### ✓ **Amplification génique par PCR**

La PCR pour réaction de polymérisation en chaîne est une technique d'amplification génique *in vitro* de biologie moléculaire. Elle est utilisée pour amplifier de l'ADN en milliers de copies identiques par une succession de réactions de réplication de la matrice d'ADN (**Saiki R.K. et al., 1985**). La PCR est basée sur le mécanisme de réplication de l'ADN. Elle comprend 3 étapes dont une dénaturation thermique de l'ADN, une hybridation par des amorces oligonuléotides, et une élongation par une enzyme de polymérisation. Chaque réaction emploie deux amorces spécifiques qui bornent la séquence d'intérêt à amplifier.

Les méthodes d'amplification sont nombreuses et nous pouvons citer deux méthodes principales :

- **Amplification d'une cible par PCR qualitative :** la PCR qualitative est une technique très sensible de détection du virus même en très petite quantité dans le sang.
- **Amplification par RT-PCR quantitative :** le principe est une réaction de reverse transcription suivie d'une amplification de l'ADNc. Elle ne détecte pas des quantités de virus aussi faibles que la PCR qualitative. Elle permet de mesurer la quantité de virus dans l'organisme.

- **Amplification d'une cible par NASBA (Nucleic Acid Sequence Basic Amplification)** : c'est une technique d'amplification isothermique dont le produit final est de l'ARN antisens.

#### ❖ Exemple de quelques trousse de détection moléculaire du VIH

##### ▪ Amplification détection par Amplicor ADN VIH-1 (roche)

Le test Amplicor HIV-1 ADN test<sup>®</sup>, version 1.5 est basé sur l'amplification par PCR d'une séquence de 155 pb du gène *gag* suivie d'une détection par hybridation de sondes spécifiques en présence d'un contrôle interne. Tout d'abord, une étape de préparation des échantillons est réalisée en présence de détergent suivie de l'extraction de l'ADN viral à chaud. Après l'amplification par PCR, une détection de l'ADN viral et du contrôle interne est réalisée séparément après une dénaturation chimique. La fixation d'un conjugué marqué à l'Avidine peroxydase permet la lecture de l'absorbance à une longueur d'onde de 450nm.

##### ▪ La technologie Abbott Real time HIV-1 des laboratoires Abbott

C'est une technique qui est entièrement automatisée grâce à deux appareils : Abbott m2000sp<sup>®</sup> qui assure la préparation des échantillons avec pour objectif d'extraire et d'isoler les acides nucléiques et l'appareil Abbott m2000rt<sup>®</sup> qui réalise l'Amplification et la détection qualitative du virus. L'amplification se fait sur une séquence cible du gène *pol*. La quantité de séquence cible du VIH-1 présente à chaque cycle d'amplification est mesurée à l'aide de sondes oligonucleotidiques marquées par fluorescence. Les sondes ne génèrent aucun signal à moins d'être spécifiquement liées au produit amplifié. Le cycle d'amplification, au cours duquel le signal fluorescent est détecté par m2000rt<sup>®</sup>, est proportionnel au log de la concentration d'ARN du VIH-1 présente dans l'échantillon d'origine. (Voir Figure annexe)

##### ▪ NucliSENS EasyQ HIV V1.1<sup>®</sup> de Biomerieux

Le test NucliSENS EasyQ HIV-1 v1.1 combine une extraction magnétique de l'ARN par la chimie de Boom suivie d'une amplification isothermique (par la technique NASBA) et utilise des balises moléculaires pour la détection. Elle cible la séquence *gag* et permet la quantification aussi bien du VIH-1 que du VIH-2 dans une marge de 25 à 1000000.

Le diagnostic de l'infection à VIH est basé sur la recherche des acides nucléiques du VIH par la technique de PCR chez nouveau né et enfant, ou par la recherche des anticorps maternels. Le diagnostic est sans nul doute une étape importante dans le suivi du patient pour assurer une bonne prise en charge de la maladie et mieux évaluer l'état du malade.

#### **4-3-Place du DBS dans le diagnostic précoce de l'infection à VIH/SIDA.**

Le prélèvement de sang sur papier buvard ou papier filtre DBS (Dried Blood Spot) a permis une approche simple et efficace dans le diagnostic de nombreuses maladies néonatales.

Les nombreuses difficultés rencontrées au cours des prélèvements et traitements des échantillons veineux sur tube (réalisation du prélèvement chez l'enfant, volume de sang insuffisant, non disponibilité d'un laboratoire de biologie moléculaire, délai de traitement des échantillons de sang veineux, rupture de la chaîne de froid) ont rendu souvent inaccessible le dépistage précoce des enfants avant l'âge de 18 mois. L'utilisation des DBS dans la détection moléculaire de l'ADN et l'ARN du VIH-1, décrite en 1991, constitue une aide précieuse au diagnostic biologique décentralisé. Ainsi, les difficultés liées au transport et à la conservation des prélèvements veineux sur tube ont diminuée (**Diouara A.A. et al., 2014, Kebe K. et al., 2011**)

#### **5-Traitement par les antirétroviraux**

Le traitement ARV est indispensable à la prise en charge de l'infection à VIH/SIDA. L'objectif principal du TARV est d'empêcher la progression vers le SIDA et le décès en maintenant ou restaurant les CD4 à un nombre de  $CD4 > 500/mm^3$ . Selon les recommandations de l'OMS, l'initiation du traitement ARV est indiquée chez toute personne dont le nombre de CD4 est inférieur ou égal à  $500/mm^3$ . Ce traitement est recommandé quelle que soit la numération des CD4 et un traitement à vie pour les femmes enceintes séropositives ou qui allaitent leur enfant (**OMS, 2014**). Le TARV doit rendre la charge virale plasmatique (CV) indétectable ( $<50$  copies/mL), ce qui favorise la restauration immunitaire, diminue le risque de sélection de virus résistants et réduit la morbidité associée au VIH (**Peeters M., et al., 2013**). Le TARV est regroupé sous trois schémas thérapeutiques codifiés par l'OMS selon les niveaux de résistance.

Ce traitement consiste en l'association de plusieurs molécules ayant une action sur le cycle de réplication du virus. Les molécules antirétrovirales agissent en interférant avec le cycle de réplication de ce dernier. Il est utilisé comme moyen de prévention depuis 1994 dans la PTME

## **CHAPITRE II: prévention de la TME**

### **1-Définition**

La transmission de la Mère à l'enfant(TME) par le VIH est la contamination du fœtus ou de l'enfant par une Mère infectée par le VIH, la PTME est la prévention de la transmission Mère-enfant qui comporte donc toutes les actions permettant de diminuer ou d'empêcher cette transmission, pour ce faire il poursuit à l'atteinte des interventions qui regroupent l'ensemble des moyens qui concourent à la réduction du risque de (TME).

### **2- Objectif**

La PTME a pour objectif de diminuer le risque de transmission du VIH de la mère infectée à son enfant pendant la grossesse, l'accouchement et le post-partum.

Elle doit s'intégrer dans un programme global qui comprend :

- La prévention primaire de l'infection par le VIH.
- La prévention des grossesses non désirées chez la femme infectée par le VIH.
- La prévention de la transmission du VIH de la femme infectée à son enfant.

Selon la mise à jour programmatique de l'OMS en 2012 sur l'utilisation des antirétroviraux pour traiter la femme enceinte et prévenir l'infection à VIH chez le nourrisson. Il existe 3 options pour les programmes de PTME : Option A, Option B et Option B+. (cf. tableau II)

✓ **Recommandations de l'OMS**

**Tableau II: Différentes options pour le programme PTME (OMS., 2013)**

	La Femme reçoit		L'Enfant reçoit
	Traitement si CD4 $\leq$ 350 cellules/mm <sup>3</sup>	Prophylaxie si CD4 > 350 cellules/mm <sup>3</sup>	
<b>Option A</b>	Trois ARV commencés sitôt le diagnostic posé, poursuivis toute la vie	Avant l'accouchement: AZT dès la 14 <sup>ème</sup> semaine de grossesse Pendant l'accouchement: au début du travail, NVP en dose unique et première dose d'AZT/3TC Post-partum: AZT/3TC tous les jours pendant 7 jours post-partum	NVP tous les jours depuis la naissance jusqu'à 1 semaine après l'arrêt de tout allaitement au sein ; en l'absence d'allaitement au sein ou si la mère est sous traitement, jusqu'à l'âge de 4 à 6 semaines
<b>Option B</b>	<b>ARV identique au début dans les deux cas :</b>		NVP ou AZT tous les jours depuis la naissance jusqu'à l'âge de 4 à 6 semaines quelle que soit la méthode d'alimentation du nourrisson
	Trois ARV commencés sitôt le diagnostic posé, poursuivis toute la vie	Trois ARV commencés dès la 14 <sup>ème</sup> semaine de grossesse et continués pendant l'accouchement jusqu'à la naissance de l'enfant en l'absence d'allaitement au sein ou jusqu'à 1 semaine après l'arrêt de tout allaitement au sein	
<b>Option B+</b>	<b>ARV identiques pour le traitement et la prophylaxie:</b>		NVP ou AZT tous les jours depuis la naissance jusqu'à l'âge de 4 à 6 semaines quelle que soit la méthode d'alimentation du nourrisson
	Quel que soit le nombre de CD4, trois ARV commencés sitôt le diagnostic posé, poursuivis toute la vie		

Ce tableau présente un résumé des options de prophylaxie par ARV recommandées chez les enfants et femmes infectées par le VIH en dépit des paramètres immunologiques tels que les valeurs de CD4 où le traitement est instauré quel que soit le stade clinique pour  $CD4 \leq 350$  cellules/mm<sup>3</sup> et pour  $CD4 > 350$  cellules/mm<sup>3</sup>.

Dans le cadre des objectifs de la PTME, l'OMS recommandait de commencer la prophylaxie par ARV au cours de la grossesse, du travail et de l'accouchement ainsi que pendant l'allaitement et sur une période prolongée. Les options recommandées permettent une réduction importante du risque de TME.

L'option A était basée sur une administration quotidienne d'AZT à la mère à partir du troisième trimestre de grossesse et une dose unique de NVP au moment du travail et de l'accouchement. Une prophylaxie à base de NVP était aussi administrée au nourrisson pendant 6 semaines après la naissance. Cette prophylaxie pour le nourrisson doit être continuée jusqu'à la fin de l'allaitement maternel.

L'option B qui propose une association de trois ARV dès la 14<sup>ème</sup> semaine de grossesse jusqu'à la naissance de l'enfant. Cette prophylaxie est poursuivie jusqu'à ce que la maman décide de ne pas allaiter au sein ou à l'arrêt de l'allaitement.

L'option B+ est de préconiser le même schéma à base d'association de trois ARV pour toutes les femmes enceintes infectées par le VIH, mais aussi de continuer ce traitement à vie quel que soit le taux de CD4 (OMS, 2013).

### **3- Stratégies d'intervention par le programme de la prévention de la TME au Mali (Politique et Protocoles de prise en charge antirétrovirale du VIH et Sida du Mali. Avril 2014).**

#### **✓ Prophylaxie ARV et schémas thérapeutiques dans la prévention de la TME**

##### **✚ Protocoles thérapeutiques**

###### **▪ Chez la mère**

La conduite à tenir doit prendre en compte plusieurs facteurs:

- L'état clinique et immunologique de la mère
- Le moment auquel elle se présente à la structure de santé par rapport à la date prévue pour l'accouchement
- Les capacités de la structure en matière de traitement antirétroviral (disponibilité des ARV, disponibilité des prescripteurs, accessibilité de la structure de référence)

□ L'option d'alimentation.

**✚ Schémas thérapeutiques** (cf. tableau III)

**Tableau III:** Le traitement antirétroviral en fonction de la situation de la femme enceinte séropositive au VIH

	<b>femme séropositive pendant la grossesse</b>	<b>femme séropositive pendant l'accouchement</b>
<b>Situation sans TARV</b>	Débuter le TARV dès que le diagnostic est confirmé	Femme séropositive non suivie et non traitée qui est en travail: il faut initier une trithérapie suivant l'un des schémas recommandés
<b>Situation sous TARV</b>	Continuer le TARV déjà initié s'il est efficace et bien toléré (Option B+ OMS 2012)	continuer le TARV une fois le traitement ARV initié, il est poursuivi à vie (Option B+ OMS 2012)
<b>Le schéma préférentiel recommandé</b>	<b>Cas du VIH-1</b>	
	Tenofovir (TDF) + Lamivudine (3TC) + Efavirenz (EFV)	
<b>Les schémas optionnels possibles</b>	- Tenofovir (TDF) + Lamivudine (3TC) + Névirapine (NVP) - Zidovudine (AZT) + Lamivudine (3TC) + Efavirenz (EFV) - Zidovudine (AZT) + Lamivudine (3TC) + Névirapine (NVP)	
<b>Le schéma préférentiel recommandé</b>	<b>Cas du VIH-2</b>	
	Tenofovir (TDF) + Lamivudine (3TC) + Lopinavir/Ritonavir (LPV/r)	
<b>Les schémas optionnels possibles</b>	Zidovudine (AZT) + Lamivudine (3TC) + Lopinavir/Ritonavir (LPV/r) Tenofovir (TDF) + Lamivudine (3TC) + Zidovudine (AZT)	
<b>Cas du VIH-1+2</b>		
Traiter comme le cas du VIH-2		

**Tableau IV:** Les mesures médicamenteuses (ARV) préconisées en fonction de l'option d'alimentation du nouveau-né

<b>Cas du VIH-1</b>		
	<b>Nouveau-né sous allaitement maternel exclusif</b>	<b>Nouveau-né sous-alimentation artificielle exclusive</b>
<b>La prophylaxie recommandée</b>	<p><b>NVP sirop: 2mg/kg/j</b></p> <p>En cas de toxicité ou de non disponibilité de la Névirapine utilisé de préférence :</p> <p><b>3TC sirop: 2mg/kg/j</b> à débiter immédiatement après l'accouchement et continuer pendant 6 semaines.</p>	<p><b>AZT sirop 2mg/kgX2 /jour</b> à débiter immédiatement après l'accouchement et continuer pendant 6 semaines</p> <p>- Si la mère n'a pas reçu les ARV pendant la grossesse, la prophylaxie chez le nouveau-né continuera jusqu'à 12 semaine. Réajuster à partir de 6 semaines la dose à administrer en fonction du poids.</p>
<b>Cas du VIH-2</b>		
<b>La prophylaxie recommandée</b>	<p>-Si mère est bien traitée donner <b>AZT</b> pendant 6 semaines</p> <p>-Si dépistage tardif de la mère donné <b>AZT+3TC</b> pendant 1 mois</p> <p><b>NB</b> : Ne pas utiliser la NVP en cas de VIH-2</p>	<p><b>AZT sirop 2mg/kgX2 /jour</b> à débiter immédiatement après l'accouchement et continuer pendant 6 semaines</p> <p>-Si la mère n'a pas reçu les ARV pendant la grossesse, la prophylaxie chez le nouveau-né continuera jusqu'à 12 semaine. Réajuster à partir de 6 semaines la dose à administrer en fonction du poids.</p>
<b>Cas du VIH-1+2</b>		
Traiter comme le cas du VIH-2		

**NB** : Le mode de calcul en ml est le suivant :

**Névirapine (10mg/ml)** : Poids de naissance X 0,2ml en une dose journalière

**3TC (10mg/ml)** : Poids de naissance X 0,2ml matin et soir

**AZT (5mg/ml)** : Poids de naissance X 0,4ml matin et soir

### **Alimentation du nourrisson**

Le conseil en alimentation doit se faire à tout moment (avant, pendant la grossesse et après l'accouchement).

Le choix du mode d'alimentation doit être éclairé et se fera entre :

- Un allaitement maternel exclusif jusqu'à 6 mois avec sevrage à 12 mois.

- Une alimentation artificielle si les conditions suivantes sont réunies : alimentation acceptable, faisable, abordable financièrement, durable dans le temps et sûre.

#### **NB :**

L'alimentation mixte est proscrite

L'aide à l'observance doit être renforcée chez la mère optant pour l'allaitement maternel, surtout si la charge virale est élevée

**(Plan d'élimination de la transmission du VIH de la Mère-enfant du Mali (2015-2019) ,, avril 2014)**

**DEUXIEME PARTIE**

**TRAVAIL EXPÉRIMENTAL**

## CHAPITRE I:

### 1-Contexte et justification:

Le risque de transmission verticale du VIH est presque inexistant dans les pays industrialisés où les niveaux de transmission sont à moins de 2% depuis les années 2000, voire moins de 0.5% dans les situations optimales (**Frangé P., et coll., 2014** ). Si l'on considère que la TME du VIH a été pratiquement éliminée aux Etats-Unis et en Europe, l'Afrique au sud du Sahara reste encore touchée avec des besoins importants en services de prévention de la TME du VIH non couverts.

En Afrique plus de 90% des infections à VIH pédiatrique résultent d'une transmission de la mère à l'enfant (TME), liée à une prévalence élevée de ce virus chez les femmes en âge de procréer (**OMS, 2013**). La plupart des infections à VIH de la mère à l'enfant surviennent sans intervention au cours de la grossesse et de l'accouchement (15 à 30%), ou durant l'allaitement (10 à 20%). (**Rapport ONUSIDA, 2014**).

Au Mali, le programme de prévention de la transmission mère-enfant a démarré en 2001 et a connu depuis des avancées significatives. Ceci s'est manifesté à travers l'augmentation des sites qui sont passés de 1 site en 2001 à 338 en 2011. L'extension des sites a permis d'accroître le nombre de femme enceintes dépistées lors des consultations prénatales et par conséquent le nombre de femmes enceintes séropositives qui reçoivent les ARV pour prévenir la transmission mère –enfant du VIH. Pour la réduction de cette transmission, différents protocoles ont été proposés par des institutions comme l'OMS. Le schéma prophylactique a évolué de la monothérapie initiale par zidovudine (ZVD) à l'utilisation du traitement antirétroviral combiné au cours de la grossesse, pendant l'accouchement et durant l'allaitement. En vue d'une élimination de la TME sur le territoire de par les objectifs de 2015. Les données programmatiques de l'année 2011 ont été utilisées pour la revue PTME car elles reflètent mieux la réalité de la situation sanitaire du pays (2012 ayant été une année de crise, et les données de 2013 non encore validées au moment de la revue) (**Plan d'élimination de la transmission du VIH de la Mère-enfant du Mali (2015-2019) ., avril 2014**).

Cependant le taux de transmission à partir de diagnostic précoce n'a pas été évalué pour voir les performances du programme.

Pour répondre à cette préoccupation, nous avons entrepris ce travail de mémoire de Master dont l'objectif général est d'évaluer le taux de transmission (TME) entre 2009 et 2013 et déterminer les facteurs associés en se basant sur les résultats du diagnostic précoce.

## **2-Objectifs de l'étude:**

- **OBJECTIF GENERAL:**

Contribuer à l'évaluation du programme de la prévention de la transmission mère-enfant du VIH au Mali de 2009 à 2013.

- **OBJECTIFS SPECIFIQUES:**

- Documenter les caractéristiques sociodémographiques, et thérapeutiques des patients.
- Déterminer le résultat des PCR
- Déterminer les facteurs associés à l'infection à VIH.
- Déterminer le taux de TME de l'infection à VIH.

## **CHAPITRE II: Approche méthodologique:**

### **1-Cadre de l'étude**

Nos travaux se sont déroulés au niveau de l'unité de biologie moléculaire du laboratoire de Bactériologie Virologie (LBV) du CHU Aristide Le Dantec au Sénégal à partir des résultats réalisés dans les sites PTME au Mali à l'institut national de recherche en sante public (INRSP) de Bamako. Il s'agit d'une étude rétrospective, sur les données de 2009 à 2013.

### **2-Population d'étude**

Notre étude a concerné au total 4960 enfants âgés de 0 à 104 semaines nés de mères séropositives ayant ou non bénéficié des protocoles de PTME en vigueur durant la période d'étude.

### **3-Échantillonnage**

L'échantillonnage a été fait sur 4960 enfants nés de mères séropositives aux centres de santé de références des régions: de Kayes ; de Koulikoro ; de Sikasso, de Ségou et les six communes du district de Bamako selon un modèle simple de recrutement systématique des enfants nés de mères séropositives au VIH dans le cadre du programme PTME.

Des spots ont été réalisés sur des papiers buvards (DBS)

### **4-Variables étudiées**

#### **Caractéristiques sociodémographiques et thérapeutiques :**

- Age ;
- Sexe des nouveaux nés ;
- Traitement-prophylaxie reçus après découverte de leur statut ;
- Mode d'alimentation ;
- Type prophylaxie ;
- Le résultat des PCR et le profil sérologique des enfants infectés.

## 5- Matériel et techniques de collecte :

- ✓ Liste du matériel nécessaire pour le prélèvement (cf. ANNEXE)

- Identification de l'échantillon:

Dans les centres de santé un certain nombre de fiches et registres étaient remplis par l'équipe qui recevait les enfants et/ou celles qui effectuaient le prélèvement:

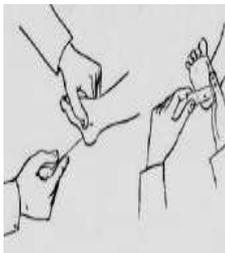
Le registre de la clinique ou du centre de santé

La fiche de prélèvement

- La fiche d'identification

Chaque échantillon a été identifié avec son numéro d'identification et la date de prélèvement. Le numéro d'identification du patient (NIP) indispensable pour l'identification des fiches et du papier filtre se trouvait normalement dans le carnet de santé de la mère et de l'enfant. Il a été demandé aux techniciens des centres de s'assurer avant tout prélèvement que la mère dispose du carnet de l'enfant et d'un numéro PTME, au cas contraire, d'attribuer un nouveau NIP à l'enfant.

Il s'agit d'un prélèvement du sang sur papier buvard ou DBS réalisés à partir de gouttes de sang prélevées du talon pour les enfants de moins de 10 kg ou du bout du doigt pour les enfants de plus de 10 kg et recueillies sur papier buvard (cf. Figures 4,5).



a) Au niveau du talon pied

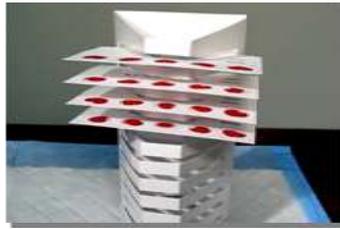
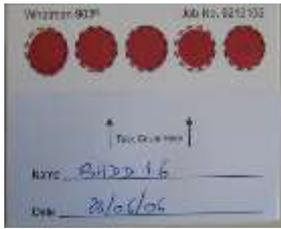


b) Au niveau du doigt



c) Au niveau de l'orteil

**Figure 4:** Techniques de prélèvement sur papier buvard (CDC, Mai 2008).



a) Prélèvement sur papier valide b) séchage des DBS c) Emballage des DBS pour le stockage

**Figure 5:** Etapes du traitement du papier buvard (CDC, Mai 2008)

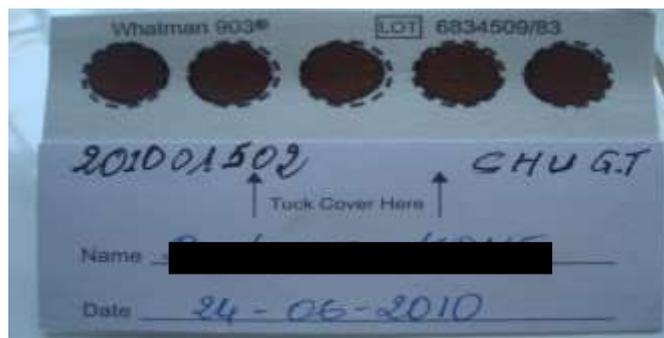
Après quatre heures ou une nuit de séchage chaque DBS a été protégé avec du papier glacine pour éviter le contact entre DBS (et d'éventuelles contaminations croisées), un maximum de 20 DBS dans un sac ziplock. Dix sachets de déshydratant et une carte indicatrice du taux d'humidité ont été ajoutés dans le sac et fermer hermétiquement. Le sac ziplock contenant les DBS a été mis dans une boîte de conservation hermétique dédiée à cet usage et rangé dans un endroit sec avec les fiches correspondantes en attendant l'expédition au laboratoire d'analyse.

- **Envoi des échantillons au laboratoire d'analyse (Labo PCR/INRSP):**

Les DBS ont été acheminés au laboratoire par un coursier chargé de la collecte sur le site. Ce coursier passait une fois par semaine sur le site pour la collecte des enveloppes et ramenait les résultats de PCR sur les sites. Les sacs ziplock contenant les DBS, les fiches de prélèvement, d'identifications et la liste de transmission des échantillons ont été mis dans une grande enveloppe. Chaque l'enveloppe a été identifié par: « Echantillons DBS des enfants », Le nom du site et la date d'expédition au laboratoire.

- **Réception des DBS au Labo PCR/INRSP:**

Au laboratoire, à la réception, tous les échantillons de DBS ont été vérifiés afin de s'assurer que toutes les fiches d'identification et le registre du site ont été remplis et que le DBS est de bonne qualité (cf. figure 6).



**Figure 6:** DBS de bonne qualité du CHU GT

➤ **Diagnostic moléculaire du VIH-1:**

Nous avons utilisé la technique moléculaire qualitative à partir du sang total collecté sur DBS pour la détection de l'ADN proviral de nos sujets. La dite technique a été réalisée sur deux plateformes selon la disponibilité des réactifs il s'agit : d'Amplior HIV-1 DNA Test, version 1.5 et m2000/rt(Abbott)

❖ **Technique de PCR classique par la technologie Amplior HIV-1 DNA Test**

Extraction de l'ADN proviral et la technique de PCR:

L'ADN proviral du VIH-1 a été extrait manuellement en utilisant le kit d'extraction AMPLICOR HIV-1 DNA Test, version 1.5 suivant la procédure du fabricant (cf. Annexe I).

▪ **L'étape d'amplification**

Le mélange de Base est le Master Mix est préparé après la procédure d'extraction. Ce mélange (Master Mix) est stable pendant 4 heures à 2-8° C (cf. ANNEXE).

### ▪ **Hybridation des amplicons**

L'étape d'hybridation se fait à l'aide de sondes spécifiques à l'ADN du VIH-1 et à celui du CT (*Chlamydia trachomatis*), intégrées dans des cupules. L'hybridation est précédée par une dénaturation chimique des amplicons par une solution d'hydroxyde de soude afin d'obtenir des matrices d'ADN simple brin.

### ▪ **L'étape de détection**

La détection des produits de PCR hybridés aux sondes se fait par une méthode immuno-enzymatique telle que l'ELISA. Une solution contenant un conjugué, l'avidine peroxydase est ajoutée dans chaque puits. L'avidine est une protéine thermolabile qui a une haute affinité de fixation avec la biotine. Chaque amplicon biotinylé et hybridé à une sonde se fixe à un conjugué. Une autre étape de lavage est effectuée puis une solution de substrats est distribuée dans les cupules. Le substrat qui est de la tétraméthyl benzidine est dégradé par l'avidine peroxydase pour donner une coloration jaune permettant la mise en évidence de l'hybridation. Après 10 mn de contact, la réaction est stoppée par une solution stop d'acide sulfurique.

### ▪ **Interprétation des résultats**

- Une réaction est positive : si la D.O du VIH-1 est supérieure ou égale à 0,8 (quelle que soit la valeur du IC)
- Une réaction est négative : Si la D.O du VIH-1 est inférieure à 0,2 et celle du CI est supérieure ou égale à 0,2.
- Une réaction est invalide : si la D.O du VIH-1 est inférieure à 0,2 et celle du CI est inférieure à 0,2. On refait le test.
- Une réaction est Indéterminée : Si la D.O est entre les valeurs 0,2 et 0,8 et/ ou si un échantillon de VIH-1+ se trouve proche d'un puits de contrôle positif ou si un nouveau échantillon de VIH-1+ est proche d'un puits contenant un échantillon initialement positif, on refait le test.

## ❖ La technologie Real time HIV-1®test des laboratoires Abbott

### Mode opératoire

- **Lavage des spots**

Cette étape est toujours précédée par le découpage des spots mais contrairement à l'Amplior® HIV-1 DNA la technique m2000rt® utilise deux spots par échantillon par série.

- **Addition du master mix (cf. ANNEXE).**
- **Amplification / Détection (cf. ANNEXE).**
- **Exportation des résultats de m2000rt® (cf. ANNEXE).**

Interprétation des résultats de la technologie Real time HIV-1®test des laboratoires Abbott

L'automate m2000rt® mentionne la présence ou l'absence du virus dans un échantillon.

### 6-Analyse statistique des données générées

Les données ont été traitées, saisies et analysées à l'aide des logiciels Word 2013, Excel 2013 et Epi-info7. La recherche de lien entre les variables a été faite par le test de Khi-deux et le seuil de signification a été fixé à  $p=0,05$

### CHAPITRE III: Résultats

Les résultats de l'étude ont été rapportés selon les caractéristiques sociodémographiques et thérapeutiques des enfants, ainsi que la détermination des résultats biologiques.

Au total, 4960 enfants nés des mères séropositives ont bénéficié du diagnostic précoce de 2009 à 2013.

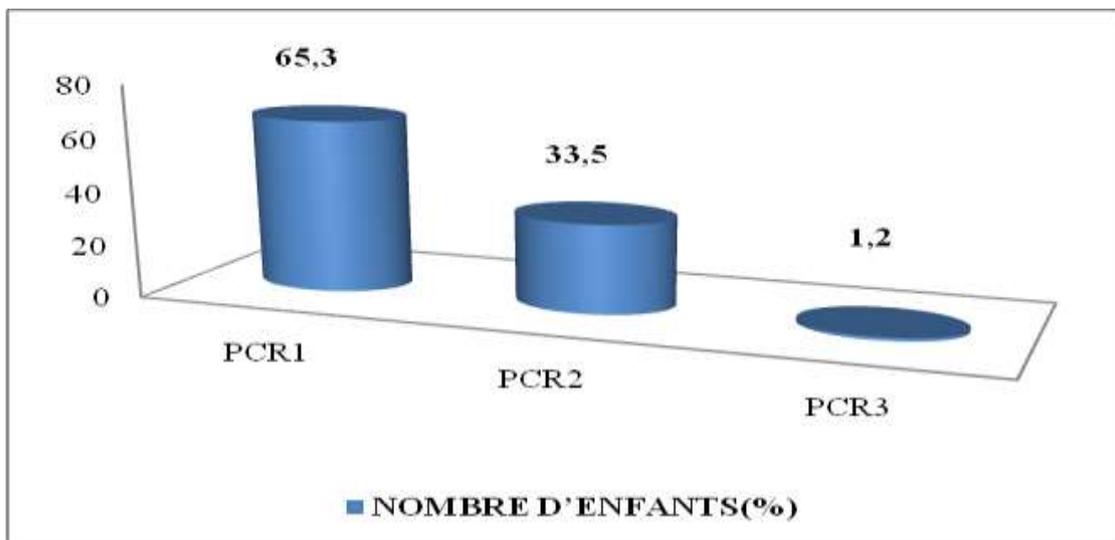
#### 1-Provenance des enfants et répartition des prélèvements sur le territoire:

Les 4960 enfants qui provenaient de toutes les localités du Mali ont été recrutés sur les 5 sites pilotes du Mali.

	Régions	Nombre d'enfants	Nombre de prélèvements
<b>Circuit d'acheminement des échantillons et des résultats PCR</b>			
	Bamako	3517	4844
	Kayes	205	287
	Koulikoro	250	306
	Sikasso	547	752
	Ségou	441	554
<b>Total</b>	<b>4960</b>	<b>6743</b>	

Bamako, était la région qui avait enregistrée plus de prélèvements avec 71,8%, suivi respectivement de Sikasso avec 11,2%, de Ségou avec 8,2%, de Koulikoro avec 4,5% et de Kayes avec 4,3%.

- La répartition des enfants recrutés qui avaient bénéficié des PCR a été établie suivant la figure ci-dessous (figure 8)

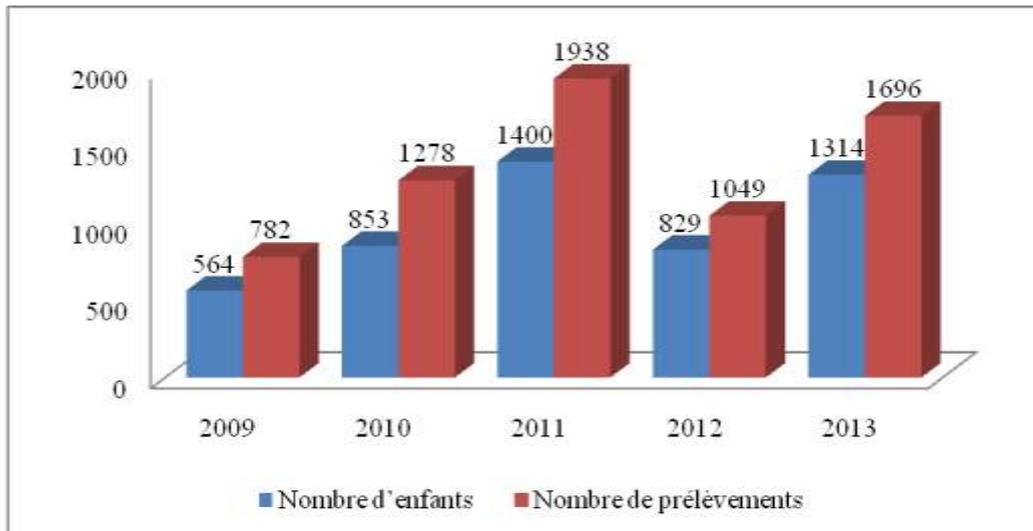


**Figure 7: répartition des enfants selon le nombre de PCR**

Les enfants qui ont bénéficié d'un seul test de diagnostic du VIH étaient de 65,3 %. Ceux qui ont bénéficié de 2 et 3 tests PCR VIH étaient respectivement de 33,5 %, et de 1,2 %.

✓ **Variation du nombre d'enfants testés par an et de prélèvements reçus:**

Le nombre des enfants enregistrés a été réparti selon les nombres de prélèvements par année de 2009 à 2013 présenté dans la figure suivante (figure 9).



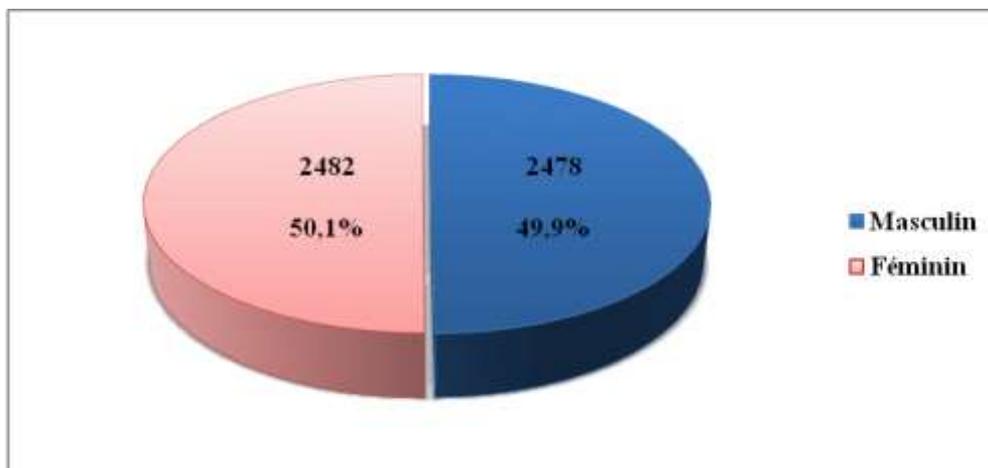
**Figure 8: Evolution des enfants et prélèvements reçus par les années**

Le maximum de prélèvements a été effectué chez 1400 enfants en 2011

## 2-Répartition des enfants selon les caractères sociodémographiques et prophylactiques

- **Répartition des enfants par sexe:**

Parmi les 4960 enfants nés de mères séropositives, Il y a presque autant de filles que de garçons. (cf. figure 10).



**Figure 9: Répartition des enfants en fonction du sexe**

- **Répartition des enfants selon l'âge:**

Elle a porté sur 4047 enfants et la médiane d'âge au premier test PCR était de 12 semaines [1 semaine- 104 semaines] entre 2009 et 2013. (cf. tableau V)

**Tableau V: Distribution des enfants par tranche d'âge de 2009 à 2013**

Age à la 1 <sup>ère</sup> PCR en semaines	2009 n=564 n(%)	2010 n=853 n(%)	2011 n=1400 n(%)	2012 n=829 n(%)	2013 n=1314 n(%)	TOTAL N=4960
≤ 6	7(1,2)	7(0,8)	282(20,1)	148(17,9)	310(23,6)	754
[7-12]	184(32,6)	345(40,4)	468(33,4)	290(35)	430(32,7)	1717
[13-24]	108(19,2)	136(15,9)	187(13,4)	172(20,7)	144(11)	747
[25-48]	146(25,9)	166(19,5)	132(9,5)	111(13,4)	130(9,9)	685
[49-72]	34(6)	26(3,1)	41(2,9)	16(1,9)	26(2)	143
[72-104]	0(0)	0	1(0,1)	0	0	1
NP	85(15,1)	173(20,3)	289(20,6)	92(11,1)	274(20,8)	913

Le maximum d'enfants qui avaient bénéficié d'une PCR étaient âgés de 7 à 12 semaines soit 34,6%.

Concernant la prise en charge, l'évolution des schémas utilisés de même que le mode d'alimentation dans la prévention est consignée dans le tableau VI.

**Tableau VI:** Prise en charge, Evolution des schémas prophylactiques et Mode d'alimentation des enfants nés de mères séropositives

	2009	2010	2011	2012	2013	4960(%)
caractéristiques	n=564 (%)	n=853 (%)	n=1400(%)	n=829(%)	n=1314(%)	4960(%)
<b>Enfants sous prophylaxie</b>						
Oui	335(59,4)	589(69,1)	955(68,2)	466(56,2)	814(62)	3159( <b>63,7</b> )
Non	83(14,7)	152(17,8)	269(19,2)	228(27,5)	305(23,2)	1037(20,9)
NP	146(25,9)	112(13,1)	176(12,6)	135(16,3)	195(14,8)	764(15,4)
<b>Schémas prophylactiques</b>						
AZT	NR	NR	15(1,1)	3(0,4)	3(0,2)	21(0,4)
NVP	NR	NR	5(0,4)	6(0,7)	11(0,8)	22(0,4)
AZT/NVP	NR	5(0,6)	252(18)	68(8,2)	265(20,2)	600(12,1)
AZT/3TC/NVP	NR	NR	30(2,1)	29(3,5)	84(6,4)	133(2,7)
D4T/3TC/NVP	NR	NR	3(0,2)	NR	NR	3(0,1)
AZT/ (LPV /R)	NR	NR	NR	1(0,1)	NR	1(0)
NP	564(100)	848(99,4)	1095(78,2)	722(87,1)	951(72,4)	4180(84,3)
<b>Mode d'alimentation</b>						
AAE	250(44, 3)	399(46,8)	441(31,5)	153(18,5)	282(21,5)	1525(30,7)
AM	295(5,1)	61(7,1)	103(7,3)	46(5,5)	73(5,5)	312(6,3)
AMP	268(45,7)	348(40,8)	806(57,6)	567(68,4)	901(68,6)	2890( <b>58,3</b> )
NP	17(3,1)	45(5,3)	50(3,6)	63(7,6)	58(4,4)	233(4,7)

**AAE** : Alimentation artificielle exclusive; **AMP** : Allaitement maternel protégé,

**NP** : Non précisé ; **AM** : Alimentation mixte **NR** : Non reçu

- le nombre d'enfants sous prophylaxie était 3159 soit 63,7% contre 1037 soit 20,9% enfants sans prophylaxie et les autres non reçues
- le schéma prophylactique le plus utilisé chez les enfants était AZT/NVP soit 12,1%

Le mode d'alimentation des enfants le plus représenté était l'allaitement maternel protégé avec 58,3% suivi de l'alimentation artificiel avec 30,7% et très peu d'enfants étaient sous alimentation mixte avec 6,3%.

Par ailleurs la complétude des données a été établie grâce aux taux de renseignement sur les bulletins d'analyses qui est présenté dans le tableau VII.

**Tableau VII:** Complétude des données par année et selon les caractéristiques prophylactiques et le mode d'alimentation.

	2009	2010	2011	2012	2013	TOTAL
Caractéristiques	n=564	n=853	n=1400	n=829	n=1314	4960
	NP(%)	NP(%)	NP(%)	NP(%)	NP(%)	
Enfants sous prophylaxie	146(25,9)	112(13,1)	176(12,6)	135(16,3)	195(14,8)	764(15,4)
Schéma prophylactique	564(100)	848(99,4)	1097(78,4)	722(87,1)	951(72,4)	4180( <b>84,3</b> )
Mode d'alimentation	17(3,1)	45(5,3)	50(3,6)	63(7,6)	58(4,4)	233(4,7)

NP: non précisé.

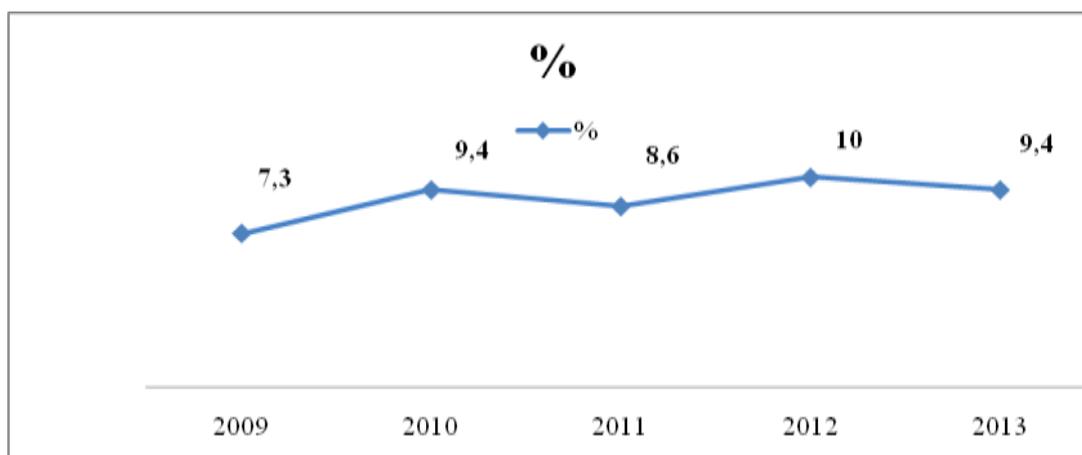
La complétude des données selon les enfants sous schéma prophylactique était considérablement élevée soit 84,3%, ce qui pourrait s'expliquer par un mauvais remplissage des fiches de renseignement qui doivent prendre en compte toutes les informations nécessaires au suivi des patients.

Il n'y avait pas de différence significative pour les enfants sous prophylaxie et le schéma prophylactique utilisé au cours des années étaient respectivement  $P=0,76$  et  $P=0,16$ . Il n'avait pas aussi de différence entre les enfants sous le mode d'alimentation de 2010 à 2013 ( $P=0,47$ ).

### 3-Résultats biologiques

#### 3-1-Taux global de transmission mère-enfant (TME) du VIH

Au total, 448 enfants ont été détectés positifs au VIH contre 4512 enfants négatifs au test entre 2009 et 2013 soit un taux global 9% ; dont 8,4% de filles et 9,7% de garçons



**Figure 10:** taux de TME du VIH par an entre 2009 et 2013

Le Taux de TME a subi une baisse non significatif en 2011 soit 8,6% malgré l'évolution du nombre d'enfants et des prélèvements enregistrés, contre respectivement un pic de 9,4% et 10% en 2010 et 2012. Le taux de TME entre les années n'est pas statistiquement significatif ( $p=0,82$ )

### **3-2-Taux de transmission mères-enfants du VIH selon les caractéristiques sociodémographiques et prophylactiques des enfants infectés**

- **Répartition des enfants infectés par sexe**

Parmi ces 448 enfants infectés, 240 étaient de sexe masculin et 208 de sexe féminin. Le taux de transmission mère-enfants est similaire chez les garçons avec 9,7 % (n=240/2478) et les filles avec 8,4 % ((n= 208/2482). Aucune différence significative n'a été notée entre les deux sexes concernant le taux de transmission.

- **Détermination de la période d'infection**

Le diagnostic de l'infection au VIH a été porté positif pour 445 enfants dès leur premier diagnostic et 3 enfants au deuxième diagnostic. Aucun n'enfant ne fut détecté positif au VIH sur une 3<sup>ième</sup> PCR. Ainsi, 13,7% (n=445/3237) des enfants ont été détectés positifs au VIH dès la 1<sup>ère</sup> PCR, pour 0,18% (n=3/1663) des enfants infectés à la 2<sup>ième</sup> PCR.

Concernant la prise en charge l'évolution des schémas utilisés et le mode d'alimentation des enfants infectés sont consignés dans le tableau VIII.

**Tableau VIII:** Le taux de TME selon les caractéristiques des enfants infectés

<b>Caractéristiques</b>	<b>Total 4960</b>	<b>Taux de transmission 448 (9%)</b>	<b>P-value</b>
<b>Ages à la 1<sup>ère</sup> PCR en semaines</b>			
≤ 6	754	35	4,6
[7-12]	1717	87	5,1
[13-24]	747	92	12,3
[25-48]	685	132	19,3 P>0,000
[49-72]	143	40	28
[73-104]	1	0	0
NP	913	62	6,8
<b>Enfants sous prophylaxie</b>			
Oui	3159	99	3,1
Non	1037	261	25,2 P>0,000
NP	764	88	11,5
<b>Mode d'alimentation</b>			
AAE	1525	102	6,7
AM	312	80	25,6 P>0,000
AMP	2890	243	8,4
NP	233	23	9,9

L'âge des enfants infectés variaient de moins de 6 semaines à 104 semaines de vie, avec une moyenne de 26,2 semaines et une médiane d'âge de 24 semaines, dont le taux de transmission Mère-Enfant était plus chez les enfants dans les tranches d'âge de [25-48] et de [49-72] semaines soit respectivement 19,3% et 28%; cependant la différence est significative ( $p = 0.000$ ).

Le taux de transmission était beaucoup plus élevé chez les enfants sans prophylaxie soit 25,2% contre 3,1% sous prophylaxie avec une valeur significative de  $p=0,000$ .

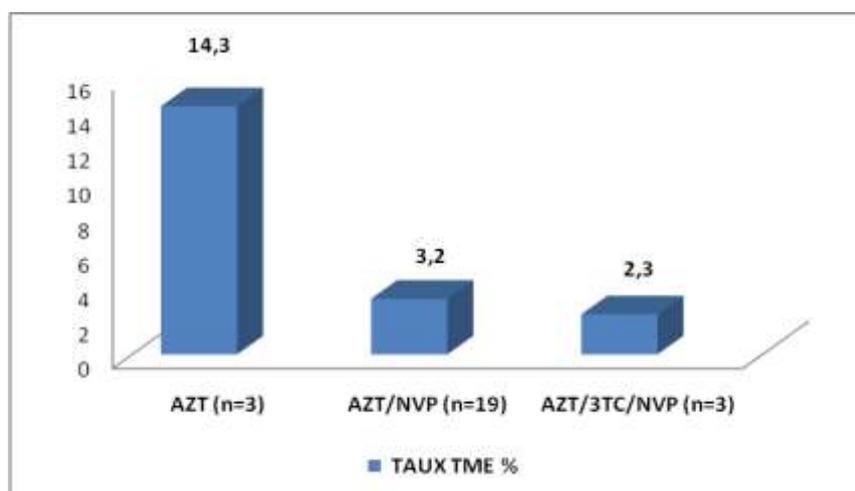
Le taux de transmission était plus élevé chez les enfants sous l'alimentation mixte soit 25,6% suivi de l'allaitement maternel protégé et de l'alimentation artificielle soit respectivement 8,4% et 6,7%. En principe, l'infection du virus est théoriquement faible au cours d'un l'allaitement dont le lait est protégé et d'une alimentation artificielle de l'enfant qui est supposé ne pas être en contact avec le lait maternel. Il a également été renseigné que certains enfants sous alimentation artificielle ont été tardivement mis sous ARV. Ce qui pourrait expliquer que le taux de TME sous ce mode d'alimentation soit élevé d'autant plus que nous pouvons estimer l'inobservance des mères séropositives à l'accès et à la prise des ARV et que les femmes ne respectent pas les indications pour l'alimentation artificielles à savoir ne pas donner le sein et que cela n'exclut pas la prophylaxie.

- **Répartition des enfants infectés selon les schémas prophylactiques:**

Les enfants infectés par le VIH-1- avaient comme schémas prophylactiques : AZT soit (3/21) ; AZT/NVP soit (19/600) et AZT/3TC/NVP soit (3/133). (cf. Figure 12)

En considérant le taux transmission selon les schémas prophylactiques des enfants infectés était 3,2%, avec une valeur significative entre les schémas utilisés ( $p=0.015$ ).

Par ailleurs la complétude des données était basée sur 74 enfants infectés sous prophylaxies dont les schémas prophylactiques n'était pas connus; 261 sans prophylaxies et 88 enfants infectés dont les schémas prophylactiques non précisés (oui? ou non?).



**Figure 11:** Taux de transmission en fonction des schémas prophylactiques des enfants infectés

## CHAPITRE IV : Discussion

La majorité des infections à VIH-1 chez les enfants de moins de 2 ans est due à la transmission mère-enfant. L'enfant peut être infecté en absence de toute prévention soit, pendant la grossesse, l'accouchement, au moment de l'allaitement maternel ou mixte. Nous avons cherché à diagnostiquer par PCR, l'infection à VIH-1 chez les enfants nés de mères séropositives. Notre étude a porté sur 4960 enfants nés de mères séropositives qui auraient reçus le protocole de prophylaxie selon les recommandations de l'OMS 2006. Nous ne disposons pas de données sur la prophylaxie des mères, ce qui constitue une des limites de cette étude.

La technique PCR nous a permis de détecter 448 (9%) enfants positifs au VIH-1 sur un total de 4960. Des études similaires menées par **Mwendo *et al.*** Renseignent un taux global de transmission verticale de 9,6% en Tanzanie entre 2009 et 2012, de même par **Gupta *et al.*** en Inde où le taux global de transmission était de 8,3% (**Gupta *et al.*, 2013, Mwendo *et al.*, 2014**); néanmoins, le taux de transmission dans notre étude était à peu près à ceux rapportés dans ces pays. Par contre, ce taux est presque le double de **K. J. Tsingaing, *et al.*, 2010** soit 4,6% à Douala au Cameroun. Ce résultat montre que le taux de transmission Mère-enfant du VIH est stable au Mali. Dans notre étude le sexe masculin était largement dominant avec un sexe ratio égal à 1,2. Conformément avec ceux retrouvés par **N Noubiap *et al.*, au Cameroun**. Le taux de transmission mère-enfant en fonction de l'âge était de 19,3% et 28% respectivement dans les tranches d'âge de [25-48] semaines et [49-72] semaines. Le résultat confirme un retard dans le diagnostic des enfants car l'âge médian est de 24 semaines. En effet, l'âge recommandé pour effectuer une PCR se situe entre 4 à 6 semaines de vie (**OMS, 2013**) pour une prise en charge précoce dans la transmission mère-enfants. Cette situation n'est cependant pas exceptionnelle dans les pays africains car les données de littérature montrent que le diagnostic précoce de l'enfant est fait plus ou moins précocement. **Anoje *et al.*** ont réalisés une étude similaire à la nôtre au Nigeria avec une médiane d'âge de 3 mois dans une population de 702 enfants et **Razina** au Niger a noté un âge médian de 6,3 mois dans son étude en 2008. Un impact significatif a été observé chez les enfants ayant reçu de la prophylaxie soit 3,1% contrairement aux enfants qui n'ont pas reçu la prophylaxie 25,2%; Une étude réalisée en Chine par **Bing *et al.***, ont trouvés aussi que la transmission était de 10,34% et de 28,57% chez les enfants respectivement sous ARV et non sous ARV (**Bing *et al.*, 2013, Anoje C. *et al.*, 2012**). Ces résultats montrent que la prise en charge prophylactique

peut prévenir une contamination verticale et les schémas d'efficacité existant sont variables. Dans notre étude plus de 84,3% (4180/4960) des enfants avaient des schémas prophylactiques non précisés. La prophylaxie ARV se définit comme étant la fourniture d'ARV pour l'utilisation à vie (option B+) afin de prévenir la transmission du VIH-1 de la mère à l'enfant. Dans notre exemple, sur les 448 enfants déclarés positifs, vingt cinq étaient sous schéma prophylactique et le plus utilisé était l'AZT + NVP soit 3,2% le taux de TME ; cependant 74 enfants infectés étaient sous prophylaxies dont le schéma prophylactique n'était pas connus; 261 sans prophylaxies et 88 enfants infectés dont les schémas prophylactiques non précisés (oui? ou non?). L'efficacité de la prévention par les antirétroviraux permet de réduire efficacement la TME et à moindre coût. L'organisation des nations unies recommandent de prévenir la transmission verticale au VIH par une stratégie qui inclut l'administration d'antirétroviraux aux couples mère-enfants (**OMS 2013**). Dans notre étude le taux de transmission était plus élevé chez les enfants ayant reçu l'alimentation mixte par rapport à ceux ayant reçu l'allaitement maternel protégé et l'alimentation artificiel soit respectivement 25,6%, 8,4% et 6,7%; résultat qui confirme le risque de transmission en cas d'alimentation mixte (artificiel et maternel) deux fois plus important qu'en cas d'allaitement maternel protégé. Pour la transmission du VIH, l'alimentation mixte comporte plus de risque que l'allaitement maternel protégé. Un taux similaire de (25,6%) chez les enfants sous alimentation mixte que ceux exclusivement sous allaitement maternel protégé (11,8%), **Anoje et al** démontraient ainsi qu'il est possible de réduire la TME par des interventions efficaces de PTME avec notamment des pratiques appropriées d'alimentation du nourrisson (**Anoje et al., 2012**).

# **CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS**

Le programme PTME dans les centres de consultations prénatales au Mali a permis aux femmes enceintes d'accéder au counseling et au dépistage du VIH. La performance du programme PTME dans le pays a été marquée par le diagnostic précoce du nourrisson et le dépistage des femmes enceintes sont en faveur d'une meilleure prise en charge en cas de contamination. Ce qui nécessite un accès massif des couples mère-enfants vers les services de santé materno-infantile à travers la décentralisation des activités de PTME en vue d'atteindre l'objectif zéro

L'objectif de cette étude était d'évaluer le programme PTME du VIH par le taux de TME au Mali entre 2009 et 2013. Au total, 4960 enfants nés de mères séropositives ont été inclus dans le programme durant cette période. La prévalence globale de transmission mère-enfant était de 9%. Au fil des ans, on remarque une stabilité de la transmission. Il ressort également dans cette étude que le taux de TME augmentait au fur et à mesure que le diagnostic du VIH était posé tardivement chez les enfants à un âge avancé. Les taux de TME étaient dans les tranches d'âge de 0 à 6 semaines de 4,6%, de 5,1% entre 7 et 12 semaines de vie, de 12,3% entre 13 et 24 semaines de vie, de 19,3% entre 25 et 48 semaines de vie et plus élevée dans la tranche de 49 à 72 semaines de vie avec 28 %. Au-delà des 72 semaines de vie, le taux de TME était de 0%. De plus, le taux de TME était de 5,1% dans les tranches d'âges d'au plus trois mois (7-12 semaines). Ce qui montre les efforts du Mali dans la prévention de la transmission du VIH de la mère à l'enfant, suivant les recommandations par l'OMS du suivi de la femme enceinte et du diagnostic précoce entre 6 et 8 semaines de vie. Notre étude montre également l'utilité de la prévention par prophylaxie antirétrovirale et par la mise de l'enfant sous allaitement maternel protégé comme recommandé par l'OMS. En ce qui concerne la prophylaxie des enfants, les schémas de traitement répondent aux normes de l'OMS. Le taux de TME était de 3,1% chez les enfants sous prophylaxie antirétrovirale contre 25,2% sans prophylaxie. En ce qui concerne le type d'alimentation, les taux de TME étaient respectivement de 8,4% et de 6,7% chez les enfants sous AMP et AA et plus élevé chez les enfants sous AM de 25,6%. Les résultats sous le régime de l'allaitement maternel protégé et de l'alimentation artificielle montrent l'inobservance de mères séropositives à l'accès et à la prise des ARV et le non respecte des consignes pour ce type d'alimentation de l'enfant qui est supposé ne pas être au contact du lait maternel. Par ailleurs, l'information sur le dépistage tardif d'un enfant à 5 mois de vie et qui est mis sous ce mode d'allaitement montre qu'il faut renforcer la sensibilisation des femmes enceintes à aller vers les structures de santé le plus tôt possible et d'encourager les femmes à adopter le mode de l'allaitement maternel protégé pour leur enfant.

Cette évaluation du taux de transmission a permis aussi de mettre en évidence certaines insuffisances dans le fonctionnement du programme PTME, notamment une défaillance considérable dans le suivi des enfants et dans la collecte des informations relatives aux couples mère-enfant. Toutefois, les recommandations de l’OMS estiment à moins de 5% l’élimination de la TME. A cet effet, il est important d’évaluer les programmes PTME.

Des efforts restent à faire pour une diminution considérable du taux de transmission et tendre vers l’objectif zéro.

### **Recommandations**

- **Au Ministère de la santé**
  - Renforcer le programme de prévention de la transmission mère-enfant du VIH.
  - Evaluer régulièrement le programme PTME.
  
- **Aux cliniciens et autres prestataires en PTME**

Respecter la complétude des données sur les demandes d’analyses de laboratoire pour une prise en charge optimale.

- **A l’INRSP**

Mettre en place une bonne base de données qui permet d’évaluer le taux de transmission du VIH de la mère à l’enfant par le diagnostic précoce des enfants.

- **A la Cellule Sectorielle de Lutte contre le Sida/ Ministère de la Santé et de l’Hygiène Publique (CSLS/MSHP)**

Respecter en vigueur les recommandations OMS 2012 dans le protocole prophylactique de la PTME.

**REFERENCES**  
**BIBLIOGRAPHIQUES**

**Amiel C, Schneider V.** Virus de l'immunodéficience humaine. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Biologie clinique, 90-55-0145,. 2011.

**Anoje C.; Aiyenigba B.; Suzuki C.; Badru T.; Akpoigbe K.; Odo M.; Odafe S.; Adedokun O.; Torpey K. and Chabikuli O.N.**"Reducing Mother-to-Child Transmission of Hiv: Findings from an Early Infant Diagnosis Program in South-South Region of Nigeria." *BMC Public Health*, 2012, 12, 184.

**Arthur L.O, Bess J.W, JR., Sowder R.C, Benveniste R.E, Mann D.L, Chermann J.C, Henderson L.E.** Cellular proteins bound to immunodeficiency viruses: implications for pathogenesis and vaccines. 2nd, 1992. *SCIENCE* 258(5090): 1935-8.

**Barin F.; M'Boup S.; Denis F.; Kanki P.; Allan J.S.; Lee T.H. and Essex M.**"Serological Evidence for Virus Related to Simian T-Lymphotropic Retrovirus Iii in Residents of West Africa." *Lancet*, 1985, 2(8469-70), 1387-9.

**Barre-Sinoussi F.; Chermann J.C.; Rey F.; Nugeyre M.T.; Chamaret S; Gruest J.; Dautet C.; Axler-Blin C.; Vezinet-Brun F.; Rouzioux C., et al.**"Isolation of a T-Lymphotropic Retrovirus from a Patient at Risk for Acquired Immune Deficiency Syndrome (Aids)." 1983, *Science*, 220(4599), 868-71.

**Belec L.** Transmission sexuelle de l'infection par le VIH. Paris, Editions John Libbey Eurotext; 2007

**Blanche S.; Newell M.L.; Mayaux M.J.; Dunn D.T.; Teglas J.P.; Rouzioux C. and al. e.** "Morbidity and Mortality in European Children Vertically Infected by Hiv-1. The French Pediatric Hiv Infection Study Group and European Collaborative Study. ." *Journal of acquired immune deficiency syndromes and human retrovirology : official publication of the International Retrovirology Association.*, 1997, 14(5), 442-50.

**Chakraborty R.** "Hiv-1 Infection in Children: A Clinical and Immunologic Overview. Current Hiv Research.." *Current HIV research.*, 2005, 3(1), 31-41.

**Chasela C.S.; Hudgens M.G.; Jamieson D.J.; Kayira D.; Hosseinipour M.C.; Kourtis A.P.; Martinson F.; Tegha G.; Knight R.J.; Ahmed Y.I., et coll.** "Maternal or Infant Antiretroviral Drugs to Reduce Hiv-1 Transmission." *N Engl J Med*, 2010, 362(24), 2271-81.

**Clavel F., Guyader M., Guetard D., Salle M., Montagnier L., Alizon M.** Molecular cloning and polymorphism of the human immune deficiency virus type 2. 1986. *NATURE* 324(6098): 691-95.

**Coffin JM, Essex M, Gallo R, Graf T, Hinuma Y, Hunter E.** 2003. Retroviridae with Ictv Report.

**Cunningham C.K.; Charbonneau T.T.; Song K.; Patterson D.; Sullivan T.; Cummins T. and Poiesz B.** "Comparison of Human Immunodeficiency Virus 1 DNA Polymerase Chain Reaction and Qualitative and Quantitative Rna Polymerase Chain Reaction in Human Immunodeficiency Virus 1-Exposed Infants." *Pediatr Infect Dis J*, 1999, 18(1), 30-5.

**Diouara A.A.; Diop-Ndiaye H.; Kebe-Fall K.; Tchiakpe E.; Ndiaye O.; Ayouba A.; Peeters M.; Mboup S. and Kane C.T.** "Dried Blood Spots for Hiv-1 Drug Resistance Genotyping in Decentralized Settings in Senegal." 2014, *J Med Virol*, 86(1), 45-51.

**Frange P.; Blanche S. and Chaix M.L.** "Infection De L'enfant Par Le Vih Dans Les Pays Industrialisés État Des Lieux Et Enjeux Futurs." *Médecine/Sciences*, 2014, 30 551-7.

**Gao F, Vidal N, Li Y, Trask S.A, Chen Y, Kostrikis L.G, Ho D.D, Kim J, Oh M.D, Choe K, Salminen M, Robertson D.L, Shaw G.M, Hahn B.H, Peeters M.** Evidence of two distinct subsubtypes within the hiv-1 subtype a radiation. 2001. *Aids res hum retroviruses* 17(8): 675-88.

**Girard P.M.; Katlama C. and Pialoux G.** *VIH: Édition 2011*.Rueil Malmaison: Doin; 839.

**Gupta A.; Singh G.; Kaushik P.; Joshi B.; Kalra K. and Chakraborty S.** "Early Diagnosis of Hiv in Children Below 18 Months Using DNA Pcr Test--Assessment of the Effectiveness of Pmtct Interventions and Challenges in Early Initiation of Art in a Resource-Limited Setting." *J Trop Pediatr*, 2013, 59(2), 120-6.

**Jourdain G.; Mary J.Y.; Coeur S.L.; Ngo-Giang-Huong N.; Yuthavisuthi P.; Limtrakul A.; Traisathit P.; McIntosh K. and Lallemand M.** "Risk Factors for in Utero or Intrapartum Mother-to-Child Transmission of Human Immunodeficiency Virus Type 1 in Thailand." *J Infect Dis*, 2007, 196(11), 1629-36.

**Kebe K.; Ndiaye O.; Ndiaye H.D.; Mengue P.M.; Guindo P.M.; Diallo S.; Leye N.; Gueye S.B.; Diallo A.G.; Kane C.T., et al.** "Rna Versus DNA (Nuclisens Easyq Hiv-1 V1.2 Versus Amplicor Hiv-1 DNA Test V1.5) for Early Diagnosis of Hiv-1 Infection in Infants in Senegal." *J Clin Microbiol*, 2011, 49(7), 2590-3.

**Mayaux M.J.; Burgard M.; Teglas J.P.; Cottalorda J.; Krivine A.; Simon F. and al. e.** "Neonatal Characteristics in Rapidly Progressive Perinatally Acquired Hiv-1 Disease. ." *The French Pediatric HIV Infection Study Group. JAMA*, 1996, 275(8), 606-10.

**Mofenson L.M.** "Prevention in Neglected Subpopulations: Prevention of Mother-to-Child Transmission of Hiv Infection." *Clin Infect Dis*, 2010a, 50 Suppl 3, S130-48.

**Mwendo E.M.; Mtuy T.B.; Renju J.; Rutherford G.W.; Nondi J.; Sichalwe A.W. and Todd J.** "Effectiveness of Prevention of Mother-to-Child Hiv Transmission Programmes in Kilimanjaro Region, Northern Tanzania." *Trop Med Int Health*, 2014, 19(3), 267-74.

**Ndung'U T, Weiss R.A.** On HIV diversity. 2012. *Aids* 26(10): 1255-60.

**Neubert J.; Pfeffer M.; Borkhardt A.; Niehues T.; Adams O.; Bolten M.; Reuter S.; Stannigel H. and Laws H.J.** "Risk Adapted Transmission Prophylaxis to Prevent Vertical Hiv-1 Transmission: Effectiveness and Safety of an Abbreviated Regimen of Postnatal Oral Zidovudine." *BMC Pregnancy Childbirth*, 2013, 13, 22.

**OMS.** "L'OMS valide l'élimination de la transmission mère-enfant du VIH et de la syphilis à Cuba.," *Communiqué de presse conjoint OMS/ONUSIDA*. 2015. <http://who.int/mediacentre/news/releases/2015/mtct-hiv-cuba/fr/> consulté le 10 Juillet 2015

**OMS.** "Transition vers de nouveaux schémas thérapeutiques pour le traitement de l'infection à VIH-Questions liées à la gestion des achats et de la chaîne d'approvisionnement," SIDA S.d.m.e.p.d.c.l., *Note d'information*. 2014. 1-3.

**OMS.** "Utilisation des antirétroviraux pour traiter la femme enceinte et prévenir l'infection à VIH chez le nourrisson," WHO/HIV/2012.6, 2012. 1-10.

**ONUSIDA.** "Atteindre l'objectif Zéro: Une riposte plus rapide plus intelligente plus efficace," 2011. 1-52.

**ONUSIDA.** "How Aids Changed Everything," *MDG 6 : 15 years, 15 lessons of hope from the AIDS response*. 2015. 520 p.

**ONUSIDA.** "The Gap Report on the Global Aids Epidemic," *York N.*, 2014. 422.

**Peeters M, Chaix M.** Origine et diversité génétique du virus de l'immunodéficience humaine : d'où vient-il, ou va-t-il ?. 2013, 17 (3): 119-31.

**Peeters M.; Jung M. and Ayouba A.** "The Origin and Molecular Epidemiology of Hiv." *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2013, 11(9), 885-96.

**Piwowar-Manning E.M.; Tustin N.B.; Sikateyo P.; Kamwendo D.; Chipungu C.; Maharaj R.; Mushanyu J.; Richardson B.A.; Hillier S. and Brooks Jackson J.** "Validation of Rapid Hiv Antibody Tests in 5 African Countries." *J Int Assoc Physicians AIDS Care (Chic)*, 2010, 9(3), 170-2.

**Plan d'élimination de la transmission du VIH de la Mère-enfant du Mali (2015-2019) .,** avril 2014.

**Plantier J.C, Leoz M, Dickerson J.E, De Oliveira F, Cordonnier F, Lemee V, Damond F, Robertson D.L, Simon F.** A new human immunodeficiency virus derived from gorillas. 2009. *NAT MED* 15(8): 871-2.

**Politique et Protocoles de prise en charge antirétrovirale du VIH et Sida du Mali.** Avril 2014.

**Rouzioux C.; Costagliola D.; Burgard M.; Blanche S.; Mayaux M.J.; Griscelli C. and al. e.** "Estimated Timing of Mother-to-Child Human Immunodeficiency Virus Type 1 (Hiv-1) Transmission by Use of a Markov Model. The Hiv Infection in Newborns French Collaborative Study Group, 1995, 142(12), 1330-7.

**Sagar A. and Vasudevan B.** "Vertically Transmitted Hiv Infection Having First Clinical Manifestations at 13 Y of Age, 2012, 79(9), 1224-7.

**Saiki R.K.; Scharf S.; Faloona F.; Mullis K.B.; Horn G.T.; Erlich H.A. and Arnheim N.** "Enzymatic Amplification of Beta-Globin Genomic Sequences and Restriction Site Analysis for Diagnosis of Sickle Cell Anemia." *Science*, 1985, 230(4732), 1350-4.

**Tejiokem M.C.; Faye A.; Penda I.C.; Guemkam G.; Ateba Ndongo F.; Chewa G.; Rekacewicz C.; Rousset D.; Kfutwah A.; Boisier P., et coll.** "Feasibility of Early Infant Diagnosis of Hiv in Resource-Limited Settings: The Anrs 12140-Pediacam Study in Cameroon." *PLoS One*, 2011, 6(7), e21840.

**Tsingaing K. J., Egbe O. T., Halle Ekane G, Tchente Nguetack C., Nana Njamen T., Imandy G., Mahamat Fanne, Barla M. E., Mvele E. D, et Belley Priso E.** Prévalence du VIH chez la Femme Enceinte et Transmission Mère-Enfant du VIH à la Maternité de l'Hôpital Général de Douala, Cameroun. *Clinics in Mother and Child Health*. 2011, 8, 3.

**Turner Bg, Summers Mf.** Structural biology of HIV. 1999. *J MOL BIOL* 285(1): 1-32.

**Vallari A, Holzmayer V, Harris B, Yamaguchi J, Ngansop C, Makamche F, Mbanya D, Kaptue L, Ndembi N, Gurtler L, Devare S, Brennan CA.** 2011. Confirmation of Putative Hiv-1 Group P in Cameroon. *J Virol* 85(3): 1403-7.

**Young N.L.; Shaffer N.; Chaowanachan T.; Chotpitayasunondh T.; Vanparapar N.; Mock P.A.; Waranawat N.; Chokephaibulkit K.; Chuachoowong R.; Wasinrapee P., et coll.** "Early Diagnosis of Hiv-1-Infected Infants in Thailand Using Rna and DNA Pcr Assays Sensitive to Non-B Subtypes." *J Acquir Immune Defic Syndr*, 2000, 24(5), 401-7.

# ANNEXES

### Liste du matériel nécessaire pour le prélèvement:

Avant tout début de collecte d'échantillon, les centres de santé disposaient des éléments nécessaires à la réalisation d'un bon prélèvement (Figure):

Gants non-poudrés

Cartes de papiers filtres (ProteinSaver™ 903® Ref : 10531018).

Lancettes rétractables de 2 mm

L'alcool à 70%

Coton hydrophile

Container pour objets tranchants

Stylo à bille.



Exemple d'un air de prélèvement avec le matériel nécessaire.

## ANNEXE I:

### PROTOCOLE D'EXTRACTION PCR ADN

#### I. Procédure

1. Porter un sarrau ou blouse de laboratoire et des gants stérile sans talc
  2. Désinfecter l'Enceinte de Sécurité Biologique (ESB) avec de l'eau de javel (10%) suivi d'éthanol (70%)
  3. Ajouter 700 µl du tampon de lavage de spécimens de Roche dans le tube contenant le DBS
  4. Agiter les tubes par rotation à la température ambiante pendant 10 min.
  5. Après 10 minutes, centrifuger les tubes pendant 2 min. à 15.000 tours/min.
  6. Retourner les tubes dans l'ESB
  7. À l'aide d'une pipette de transfert à extrémité fine stérile aspirer complètement le surnageant contenant l'hémoglobine et le jeter dans une solution d'eau de javel. Jeter la pipette de transfert dans le petit sac d'autoclave placé dans l'ESB.
  8. Répéter les étapes de lavage et d'agitation par rotation.
  9. Répéter le troisième lavage. Faire seulement les étapes de lavage (sauter l'étape de rotation).
- Incuber à température ambiante pendant 10 min.
10. Après l'aspiration complète du tampon de lavage de Roche, s'assurer que les cercles de papiers – filtres soient bien secs et libres de tout liquide résiduel. (S'il le faut presser l'embout de la pipette sur le papier – filtre)

**Nota :** A cette étape la procédure peut être discontinuée et les spécimens congelés à -70°C jusqu'au prochain test. Au cas contraire, procéder à l'étape d'Extraction (5.2)

11. En cas d'arrêt, désinfecter l'ESB avec de l'eau de javel 10%, suivi de l'éthanol 70%
12. Fermer la vitre avant et allumer la lampe ultra – violette pour environ 15 minutes.

#### II. Extraction – Secteur de Pré Amplicor (ESB située dans une salle non contaminée)

## II.1 Procédure

1.1 Porter des gants propres et désinfecter l'enceinte de sécurité biologique

1.2 Préparer le tampon de travail d'extraction de Roche version 1,5.

Pour 24 tests : Utiliser une pipette de 10 ml et verser 6ml de tampon d'extraction dans un tube de polypropylène stérile.

B) Ajouter 80  $\mu$ l du contrôle interne d'ADN (CI ADN)

C) Bien mélangé avec le vortex

Mettre 200 $\mu$ l de Réactif de travail d'Extraction dans chaque fiole cryogénique contenant un disque de papier filtre.

1.3 Agiter vigoureusement pendant 15 secondes (vortex)

1.4 Préparation du contrôle positif et négatif

A) Mettre 200 $\mu$ l du Réactif de Travail d'Extraction dans 2 fioles cryogéniques de

2 ml (marquées positif et négatif contrôle) à l'aide d'une pipette Rainin L-200.

Verser 50  $\mu$ l du positif dans le tube du control positif et 50 $\mu$ l du négatif dans le tube du contrôle négatif.

1.5 Incuber toutes les fioles à 60°C (bloc chauffant) pendant 60 minutes et après 30 minutes, mélangé à l'aide du vortex.

1.6 Incuber toutes les fioles à 100°C (bloc chauffant) pendant 30 minutes, et après 15 minutes, mélanger à l'aide du vortex.

1.7 Mélanger brièvement les échantillons au vortex, centrifugé à haute vitesse (15.000 rpm) pendant 2 minutes (micro centrifugeuse)

1.8 Ajouter 50  $\mu$ l du surnageant directement dans le tube de réaction de RCP.

II.2 Préparation du Master Mix.

Le mélange de base (Master Mix) peut être préparé soit avant la procédure d'extraction soit durant les étapes d'incubation des blocs chauffants. Ce mélange est stable pendant 4 heures à 2-8 degrés Celsius.

## 2.1 Procédure

### 2.2 Porter des gants propres

### 2.3 Préparer la solution de travail du Mélange de Base « Working Master Mix »

En ajoutant 100 µl de la solution de Manganèse (VIH-1 MN<sup>2+</sup> version 1,5) à un Flacon de la solution VIH-1 MMX version 1,5 à l'aide d'une pipette Rainin L-200

2.4 Refermer le flacon du nouveau mélange et bien mélangé en l'inversant 10 à 15 fois ou au vortex pendant 3 à 5 secondes

2.5 Pipeter 50 µl du Mélange de base de travail dans chaque tube.

2.6 Placer le plateau du Micro Amp dans un sac en plastique rescellable. La solution de mélange de Base (Master Mix) reste stable pendant 4 heures à 2- 8° C

2.7 Ne pas oublier de désinfecter la surface de travail après usage et d'allumer la lampe ultraviolette pendant 15 minutes.

### 2.8 Préparation des spécimens à amplifier – Salle de préparation des spécimens

## 3. Procédure

### 3.1 Porter des gants propres sans poudre

3.2 Pipeter avec précaution 50µl de chaque échantillon et 50µl du surnageant de contrôles dans les tubes appropriés et marqués contenant initialement le mélange de base (Amplicor version 1,5 Master Mix).

Note : Eviter de transférer du produit non suspendu

3.3 Bien mélanger le liquide en l'aspirant et éjectant avec pipette et fermer les tubes.

3.4 Sceller les tubes en exerçant une pression sur les couvercles avec l'outil.

3.5 Marquer la position des tubes dans le plateau

3.6 Congeler le reste du surnageant non amplifié à - 70° C

3.7 Amplification – Secteur de Post-Amplification

4. Procédure

4.1 Installer le plateau d'échantillon dans le bloc pour échantillons du "ABI GeneAmp 9700 » Thermocycleur



4.2 Créer la programmation suivante :

Garder pour : 2 minutes à 50°C

Cycles : 5 cycles) 10sec. @ 95 C, 10sec @ 52 C, 10 sec @ 72C

Cycles : (35 cycles) : 10 sec @ 90C, 10 sec @ 55C, 10 sec @ 72C,

Garder pour : 15 minutes @ 72C,

Nota : Ne pas laisser les échantillons pour plus de 15 minutes

4.3 Enlever le plateau

4.4 Avec précaution enlever les couvercles afin d'éviter la création d'aérosols à partir du mélange de Produits amplifiés. Immédiatement pipeter 100 µl de la solution dénaturante dans chaque tube de réaction de PCR avec une pipette à multiple channels, mélanger, et en aspirant et éjectant le liquide 5 fois.

4.5 Refermer les tubes.

4.6 Procéder à la procédure de Roche Amplicor HIV-1 DNA PCR (version 1,5) détection ou réfrigérer les produits amplifiés dénatures à 2-8°C pour 1 maximum d'une semaine.

-----

## 5. Détection

### 5.1 Réactifs et approvisionnements consommables

Trousse de RCP (PCR) d'ADN de Roche Amplicor VIH-1 version 1,5

Tampon de lavage – mélanger 100 ml de tampon a 900 ml d'eau des ionisée

Microplaques de contrôle interne (témoin – étalon) de Chlamydia (MWP) microplaques d' VIH-1

Réactif – 2 tampon d'hybridization d'VIH-1

Réactif - 3 Avidine conjugue à la peroxydase de raifort

Réactif - 4A et AB Substrat (pipeter 12 ml de 4A + 3 ml de 4B dans un tube en polypropylène de 15 ml.

Réactif – 5 Réactif d'arrêt (terminaison de réaction)

### 5.2 Procédure

#### 5.3 Équilibrer tous les réactifs à température ambiante

5.4 Préparer la solution de lavage en mélangeant 1 volume de tampon de lavage 10x avec 9 volumes d'eau ionisée. Bien mélanger. Conserver à température ambiante la solution est stable pendant 2 semaines.

5.5 Enlever respectivement la microplaque de (HIV-1 MWP) ainsi que celle du (Chlamydia IC MWP) de leur emballage respectif.

5.6 Ajouter 100µl du tampon d'hybridation à chaque puits de réaction des 2 Microplaques à analyser. Utiliser une pipette à multiple Channel.

5.7 Après la dénaturation, pipeter en double exemplaire 25 µl d'un même produit amplifié dénature (amplicon) côte a côte dans les puits des différentes barrettes). Utiliser les embouts ART. Tapoter doucement la microplaque 10 à 15fois jusqu'à ce que la couleur change du bleu au jaune clair, indication de l'homogénéité du mélange

5.8 Couvrir la microplaque (MWP) avec son couvercle et l'incuber à 37°C pendant 1heure

5.9 Procéder a un prélavage bien avant la fin de la période d'incubation, en utilisant des barrettes de puits vides afin de vérifier l'efficacité du laveur de plaques.

5.10 Ensuite procéder au lavage du MWP (5 fois) à l'aide du Tecan Columbus Plate Washer (ou procéder à un lavage manuel).

5.11 Tapoter le MWP sur une table en l'enveloppant avec du papier tampon pour éliminer tout résidu liquide.

5.12 Ajouter 100 µl du réactif 3 à chaque puits de réaction (pipette à multiple channels)

5.13 Couvrir le (MWP) avec un nouveau couvercle et incuber à 37°C/15 minutes

5.14 Laver le MWP et procéder comme en 5.6.10 et 5.6.11

5.15 Préparer la solution de substrat réactif 4 (étape 5.6.1 à voir) durant la période de lavage

5.16 Pipeter 100 µl de solution Substrat réactif 4 (pipette à multiple Channels)

5.17 Incuber a température ambiante dans la noirceur pendant 10 minutes

5.18 Arrêter la réaction en ajoutant 100 µl de solution d'arrêt (Réactif 5) à chaque puits de réaction à l'aide d'une pipette à multiple channels.

5.19 Lire la densité optique en utilisant un filtre de densité optique de (A 450nm)

## 6. Interprétation des résultats

6.1 Positif : Si la densité optique du VIH-1 est supérieure ou égale à 0,8 (quelle que soit la valeur du IC DO)

6.2 Négatif : Si la densité optique du VIH-1 est inférieure à 0,2 et celle du CI est supérieure ou égale à 0,2

6.3 Invalide : Si la densité optique du VIH-1 est inférieure à 0,2 et celle du CI est inférieure à 0,2 refaire le test.

6.4 Indéterminé : Si la valeur de la densité optique du VIH est entre les valeurs 0,2 et 0,8 et/ou si un échantillon de VIH-1+ se trouve proche d'un puits de contrôle positif ou si un nouvel échantillon de VIH-1+ est proche d'un puits contenant un échantillon initialement positif : refaire le test.

## La technologie Real time HIV-1®test des laboratoires Abbott



**Figure : Appareil m2000sp/rt®**

### **Mode opératoire**

#### **- Lavage des spots**

Cette étape est toujours précédée par le découpage des spots mais contrairement à l'Amplior® HIV-1 DNA la technique m2000rt® utilise deux spots par échantillon par série.

#### **✓ Addition du master mix**

Dès l'appareil affiche « READY », cliquer sur « Order », ensuite sur « Master Mix Addition »

Sélectionner le Run concerné puis cliquer sur « Set Up Run »

L'identité de votre plaque et ses détails vous sont rappelés. Cliquer ensuite sur « Next » pour continuer.

Entrer le nom de la plaque PCR dans « PCR Plate Name » (initiales de l'opérateur suivies de la date du jour par exemple)

Retirer les bouchons du kit d'amplification et le placer à sa position.

Mettre un tube Master Mix

Placer une plaque de PCR

Vérifier les containers (déchet liquide et solide et système fluide)

Sur l'étagère, vérifier l'absence de portoir sur l'étagère en position 1 et charger les portoirs de cônes 1000µl entièrement remplis dans les positions 2 à 8 (le détrompeur métallique doit être situé au fond de l'étagère et par conséquent invisible)

Sur le plan de travail, sélectionner les positions des racks vides en cliquant sur le petit carré associé. Echanger les racks vides par des racks pleins (le détrompeur métallique doit se situer vers la gauche)

Au moins un des deux portoirs en position 1000µl doit être plein mais également, un des deux portoirs en position 200µl doit être plein.

cliquer sur « Update » pour initialiser la table de travail et cliquer sur « Next » pour continuer.

Cliquer sur « Scan » puis sur « Next »

Avant de cliquer sur « Start », vérifier que : Les bouchons du kit d'amplification sont retirés, le tube Master Mix est chargé, La DeepWell Plate est chargée et que La plaque de PCR est chargée

A la fin, double cliquer sur « close », puis sur « resumeprocess » et enfin sur « yes »

*Exportation des données à la fin du run de Master Mix Addition :*

Cliquer sur l'onglet « Result » puis « View by PCR plate»

Sélectionner la plaque à exporter et cliquer sur «Export»

Insérer un CD ou sélectionner le réseau (Network) puis cliquer sur Start

NB : l'initialisation de l'appareil M2000rt doit être lancée 15 minutes avant l'amplification

### ✓ **Amplification / Détection**

Démarrer l'amplification et la détection en s'assurant que l'appareil Abbott m2000rt est initialisé. Sceller la plaque en utilisant le couvercle adhésif optique Abbott m2000rt et le fixer à l'aide de l'applicateur

Dès que le m2000rt est en mode « Ready », cliqué sur l'onglet « Orders » puis sélectionner « test Orders »

Cliquer sur « Import Order » pour importer les données de la plaque de PCR.

Cliquer « Next » puis « finish » pour enregistrer la plaque.

Ensuite cliquer sur « Set up run » dans « RunTasks » pour démarrer le run.

Vérifier que le plan de travail est bien chargé et cliquer sur « Next » pour continuer.

Ouvrir la porte du M2000rt, placer la microplaque de 96 puits et refermer la porte.

Cliquer sur « Start » pour lancer l'amplification.

#### ✓ **Exportation des résultats de m2000rt®**

A la fin de l'amplification-détection, cliquer sur « close » puis arrêter l'appareil M2000rt.

Cliquer sur « Results » puis sur « Result by plate ».

Cliquer sur « Printresultlist » pour imprimer les résultats.

Les résultats peuvent être sauvegardés sur CD en cliquant sur « Archive », ensuite mettre le CD dans le lecteur et enfin cliquer sur « Start ».

Interprétation des résultats de la technologie Real time HIV-1®test des laboratoires Abbott

L'automate m2000rt® mentionne la présence ou l'absence du virus dans un échantillon donné contrairement à la charge virale ou l'automate m2000 quantifie le nombre de virus par ml de sang.

Annexe II

MINISTERE DE LA SANTE REPUBLIQUE DU MALI

\*\*\*\*\* UN PEUPLE- UN BUT-UNE FOI

SECERETARIAT GENERAL

\*\*\*\*\*

CELLULE DE COORDINATION DU COMITE

FICHE DE DEMANDE POUR LE DEPISTAGE ADN PCR DE L'INFECTION PAR LE  
VIH CHEZ LE NOUVEAU-NE ET L'ENFANT DE MOINS DE 18 MOIS

Réservé au site demandeur

Nom de la structure : .....

Nom du prescripteur : .....N°tél : .....

Nom et Prénom de l'enfant : .....

Date de naissance/ ..... Sexe : M /\_\_ / F /\_\_ /

Signes cliniques : .....

Prophylaxie ARV reçu : .....

Allaitement : maternel  PCR1

Artificiel  PCR2

Mixte

Durée allaitement : ..... Date arrêt : /\_\_ /\_\_ /\_\_ /\_\_ /\_\_ /\_\_ /

Remarques : .....

Numéro d'identification de la Maman : .....

---

Réservé à l'agent chargé du prélèvement

Nom de la Structure ayant fait le prélèvement :.....

Code de prélèvement de l'enfant :.....

Nom de la personne ayant fait le prélèvement.....

Date et signature.....

---

Réservé à l'INRSP

Date de réception du prélèvement :.....

Observation sur le prélèvement.....

Résultat du test :.....

Nom et prénoms de la personne ayant fait le test.....

Date et Signature.....

Annexe III

MINISTERE DE LA SANTE

REPUBLIQUE DU MALI

\*\*\*\*\*

UN PEUPLE- UN BUT-UNE FOI

SECRETARIAT GENERAL

\*\*\*\*\*

CELLULE DE COORDINATION DU COMITE

SECTORIEL DE LUTTE CONTRE LE SIDA

FICHE TECHNIQUE POUR LA DEMANDE DE PCR ADN CHEZ LES ENFANTS NES  
DE MERES SEROPOSITIVES

CONDITIONS PREALABLES

ENFANTS NES DE MERES SEROPOSITIVES DE MOINS DE 18 MOIS

QUAND FAIRE LA PCR

1<sup>ER</sup> PRELEVEMENT A PARTIR DE 6 SEMAINES DE VIE

SI RESULTAT PCR1 NEGATIF : 2<sup>eme</sup> PRELEVEMENT

1 MOIS APRES LE 1<sup>er</sup> PRELEVEMENT SI L'ENFANT EST SOUS ALIMENTATION DE  
REPLACEMENT

2 MOIS APRES L'ARRET DE L'ALLAITEMENT

SI RESULTAT PCR1 POSITIF : DEMANDER LA CONFIRMATION IMMEDIATEMENT

INTERPRETATIONS DES RESULTATS

PCR 1 ET PCR 2 POSITIVES : ENFANTS INFECTES PAR LE VIH

PCR 1 ET PCR 2 NEGATIVES : ENFANTS NON INFECTES PAR LE VIH

RESULTATS DISCORDANTS ENTRE PCR1 ET PCR2 : FAIRE UNE 3<sup>eme</sup> PCR, LE  
DIAGNOSTIC SERA ALORS LES 2 RESULTATS IDENTIQUES

CONDUITE À TENIR

PCR1 ET PCR 2 NEGATIVES : CONTINUER A SUIVRE CET ENFANT COMME LES  
AUTRES ENFANTS NON INFECTES

PCR1 ET PCR2 POSITIVES : REFERER L'ENFANT DANS UN SITE DE PRISE EN  
CHARGE PEDIATRIQUE

# Résumé

## INTRODUCTION

La transmission mère-enfant du VIH constitue la voie de contamination la plus fréquente chez les nouveau-nés et enfants. Malgré la PTME, la contamination dans ce groupe reste à ce jour une réalité dans les pays à ressources limitées. Le but de notre étude est d'évaluer l'évolution de la prévention de la transmission mère-enfant du VIH de 2009 à 2013 au Mali.

## METHODOLOGIE

Il s'agit d'une étude transversale à visée évaluative des activités de diagnostic précoce de 2009 à 2013 au Mali. Les patients de l'étude étaient des nouveau-nés et enfants, tous nés de mère séropositive au VIH-1. Les mamans étaient sous HAART selon les recommandations 2010 de l'OMS exceptées celles non suivies dites « cas hors protocoles ». Les variables étudiées étaient le délai de prélèvement, le type d'allaitement, et la prophylaxie ARV chez cette population cible. Tous les prélèvements sur papier buvard (DBS), réalisés dans les sites PTME chez tous les enfants, ont été acheminés au laboratoire national de référence du diagnostic précoce. Le diagnostic moléculaire a été réalisé sur deux plateformes selon la disponibilité des réactifs ; il s'agit d'Amplicor HIV-1 DNA (Roche®) test Vs1.5 et m2000rt qualitative (abbott®).

## RESULTAT

Le taux de transmission est relativement élevés, ce qui pourra s'expliquer par la situation des cas « Hors PTME » ainsi qu'à la prophylaxie et le mode d'alimentation

## CONCLUSION

La transmission par voie verticale demeure toujours un problème de santé publique au Mali, cependant, le mode d'alimentation et la prophylaxie chez les enfants reste à améliorer. La PCR reste un moyen sûr de prévention de la TME dans le diagnostic précoce de l'infection à VIH.



Cobas amplicor  
HIV-1 DNA kit

m2000rt analyseur

DBS

## Résultats

Nombre d'enfants nés de mères HIV+	4960
Délai moyen de prélèvement	16,5 semaines
Prophylaxie nouveau-nés (76,9%)	AZT/NVP
Nouveau-nés à PCR positive	448
PCR réalisée	6743
CARACTERISTIQUES	TRANSMISSION
Transmission globale	9%
Alimentation Artificiel	6,7%
Allaitement Maternel	8,4%
Allaitement Mixte	25,6%
Sous prophylaxie	3,1%
Sans prophylaxie	25,2%

Mots clés : Diagnostic précoce, VIH-1, PTME