



Article Original

Problématique du Diagnostic du VIH en Afrique Subsaharienne : Résultats Erronés dans une Etude Pilote (NAMSAL) au Cameroun

Issues of HIV diagnosis in sub-Saharan Africa: erroneous results in a pilot study (NAMSAL) in Cameroon

Elvine Edoul Mbesse Ginette^{1,2}, Butel Christelle³, Emole Etame Eugénie¹, Tongo Passo Marcel¹, Ayouba Ayouba³, Mpoudi Ngolè Eitel¹, Kouanfack Charles⁴, Delaporte Eric³, Peeters Martine³, Nnanga, Nga²

RÉSUMÉ

Contexte. Certaines études sur le diagnostic du VIH ont révélé des résultats erronés après investigation supplémentaire. L'essai thérapeutique NAMSAL (The New Antiretroviral and Monitoring Strategies in HIV-Infected Adults in Low-Income Countries) a évalué la non-infériorité d'une première ligne de traitement antirétroviral comprenant deux molécules, le Dolutégravir 50 et l'Efavirenz 400. L'objectif du présent travail était d'explorer la compréhension de la non positivité de certains patients avec des charges virales non détectables à l'initiation au traitement. **Matériel et méthodes.** Nous avons réalisé une étude multicentrique transversale, dans trois sites (HCY, HMY, HDCV) et au laboratoire de virologie IMPM/CREMER/IRD. Sur 817 patients référés VIH-1 positif et non traités, seul 204 n'ont pas été inclus. Notre étude a porté sur 114 de ces 204 patients non-inclus de NAMSAL. Le matériel utilisé comprenait, deux thermocycleurs (Abbott et classique), un auto Blot 300™ et un lecteur Elisa. Les variables recherchées étaient, la charge virale plasmatique, le statut sérologique VIH et le sérotype. **Résultats.** Parmi les 817 patients, 114 ont constitué la population de notre étude. Ainsi, 49 (43 %) avaient une charge virale < 1000 copies/ml et 65 (57 %) une charge virale > 1000 copies/ml. Rapportés à l'ensemble de la cohorte de patients pré-inclus (n=817), 4/817 (0,5 %) étaient du groupe-O confirmés par biologie moléculaire. Sur la base des résultats de PCR, 14 patients des 817 (1,7 %) réputés être VIH-1 positifs étaient probablement non infectés. **Conclusion.** La présente étude a révélé que 1,7 % des patients VIH-1 référés pour être inclus dans NAMSAL n'étaient pas réellement infectés. Les résultats erronés entraînant les conséquences sociales et économiques proviendraient du manque de formation continue du personnel, l'absence du management de la qualité dans les laboratoires.

ABSTRACT

Introduction. The NAMSAL therapeutic trial evaluated the non-inferiority of a first line treatment comprising Dolutegravir to another line comprising Efavirenz 400. The criteria for not taking part to the trial included infection with non-M HIV-1, untreated patients with HIV viral load <1000 copies/mL. The objective of this study was to explain why some treatment naïve patients had undetectable viral loads. **Materials and methods.** Out of 817 patients pre-included with HIV-1 infection and untreated, 204 were not included and the present study focused on 114 of these 204 patients not included in NAMSAL. HIV plasma viral load, serological status and the serotype were confirmed by RT-qPCR (Abbott), INNOLIA HIVI/II Score (Fujirebio), and by ELISA with synthetic peptides of the different HIV-1&2 groups. Universal or specific PCR (M and O) were performed on the samples for molecular confirmation and characterization. **Results.** Among the 114 patients studied, 49 (43%) had a viral load < 1000 copies/mL and 65 (57%) had a viral load > 1000 copies/mL. When reported to the whole cohort of pre-included patients (n=817), 4/817 (0.5%) were group-O confirmed by molecular biology. Based on the PCR results, 14 out of 817 patients (1.7%) deemed to be HIV-1 positive were most likely uninfected. **Conclusion.** 1.7% of HIV-1 patients referred for inclusion in NAMSAL were not actually infected. Ongoing staff training and quality control of laboratories must be strengthened in Cameroon in view of the social and economic consequences of misdiagnosis.

⁽¹⁾Centre de Recherche sur les Maladies Emergentes et Réémergentes (CREMER), Virology Laboratory IMPM-IRD, IMPM, Yaoundé, Cameroon
⁽²⁾Département de Pharmacie Galénique et Législation Pharmaceutique de la FMSB
⁽³⁾TransVIHMI, Institut de Recherche pour le Développement (IRD), INSERM, Université de Montpellier, Montpellier, France
⁽⁴⁾Hôpital Central, Yaoundé, Cameroun

Auteur correspondant
 Edoul Ginette.
 Email : eginette@yahoo.fr

Mots clés: VIH – PCR – Diagnostic, Cameroun.

Keywords: HIV – PCR – Diagnosis, Cameroon.

INTRODUCTION

Depuis sa découverte il y a une quarantaine d'années, le VIH demeure un problème majeur de santé publique avec plus de 32 millions de décès lié à la maladie et 38 millions

de personnes vivant avec le virus, dont la majorité en Afrique subsaharienne. Au Cameroun, le nombre de personnes infectés est estimé à environ 500000. D'où la

souscription du Cameroun à l'objectif « 95-95-95 » de l'ONUSIDA pour diminuer l'épidémie d'ici 2030, c'est-à-dire que 95% des personnes séropositives doivent savoir qu'elles le sont ; 95 % des personnes infectées doivent recevoir un traitement antirétroviral au long cours ; et 95 % des personnes traitées doivent avoir une charge virale durablement indétectable (1). Cette politique confère une place primordiale à la connaissance du statut VIH, qui repose sur le diagnostic.

Par ailleurs, l'algorithme de diagnostic de l'infection à VIH diffère en fonction du contexte et des ressources disponibles. Au Cameroun, le Comité National de Lutte contre le VIH/SIDA (CNLS) recommande un algorithme basé sur l'utilisation de deux tests de dépistage (Alere Determine™ VIH-1/2 et Oraquick Hiv Rapid Test répondant aux exigences de l'OMS, suivi d'un test de confirmation (Elisa pour laboratoire de référence ou un test rapide plus spécifique avec principe différents) (2) (3). Par ailleurs, le faible coût des tests rapides, associé à une exécution facile et un délai rapide de rendu des résultats (4) (5) ont permis l'intensification du dépistage dans les pays à ressources limitées (2) (6). Toutefois, la large diversité génétique du VIH (7) (8) (9) observées au Cameroun rend le diagnostic moins aisé.

Malgré les bonnes performances de nombreux tests de diagnostic rapide (TDR) observées lors des évaluations effectuées par l'OMS, des résultats erronés ont été signalés (10) et relevés dans les populations à faible risque ou faible prévalence (11). Dans la littérature, il a été rapporté que de faux diagnostics de VIH ont été indiqués avec des taux variant de 2,5 % à 10,5 % (2) dans divers études menées avec des conséquences individuelles et sociales dévastatrices (11) (10). *NAMSAL (The New Antiretroviral and Monitoring Strategies in HIV-Infected Adults in Low-Income Countries)* est un essai thérapeutique qui vise à évaluer le dolutégravir, un inhibiteur de l'intégrase du VIH-1, versus l'effavirenz 400, un inhibiteur non nucléosidique de la transcriptase inverse (INNTI), comme première ligne de traitement pour les adultes infectés par le VIH-1 dans les pays du Sud.

Dans le cadre de l'essai NAMSAL, les patients inclus devaient avoir des charges virales supérieures à 1000 copies/ml. Or certains sujets ont présenté des charges virales indétectables alors qu'ils étaient naïfs de traitement antirétroviral et infectés par le VIH lors de la phase de pré inclusion NAMSAL. L'objectif du présent travail était d'explorer la compréhension de la non positivité de certains patients avec des charges virales non détectables à l'initiation au traitement.

MATERIEL ET METHODES

Participants à l'étude

Les participants à cette étude sont constitués des patients non inclus dans l'essai NAMSAL (13). Il s'agit d'un essai thérapeutique mené dans trois hôpitaux de la ville de Yaoundé (hôpital central, hôpital militaire, hôpital de la cité verte) entre juillet 2016 et août 2017. L'essai a obtenu une approbation du comité national d'éthique en novembre 2015 (N°2015/11/658/CE/CNERSH/SP). Tous les patients ont donné leur consentement éclairé par écrit avant toute inclusion dans l'étude. Les critères d'éligibilité à l'étude

étaient les suivants : être adulte, n'avoir pas reçu de TAR, avoir une charge virale inférieure 1000 copies/ml, être infecté avec une souche VIH-1 non M (i.e. VIH-1 O, N, P ou HIV-2 ou non typé). Les critères d'exclusion cliniques étaient la grossesse, l'allaitement, la maladie psychiatrique sévère.

Au total, la présente étude a porté sur 114 patients sur les 204 non inclus de NAMSAL pour lesquels suffisamment de matériel biologique (plasma ou culot leucocytaire) était disponible.

Procédures

Des échantillons de sang total ont été prélevés dans les différents sites de l'étude puis envoyés au laboratoire de virologie CREMER à Yaoundé. Après enregistrement, les échantillons ont été centrifugés pour récupérer le plasma et la couche leucocytaire, puis aliquotés et conservés à -80 ° C et -20 ° C jusqu'à leur utilisation ultérieure.

Mesure de la charge virale

La charge virale plasmatique a été mesurée par le kit Real-Time PCR quantitative Abbott pour tous les 114 prélèvements comme recommandé par la notice du fabricant. Son principe consiste à amplifier une séquence de 172 nucléotides avec des amorces du VIH-1 situé dans la région intégrase du gène *pol* hautement conservée (14). Elle détecte majoritairement les variants VIH-1 M (sous-types et CRFs) et les groupes divergents N, O, et P (15). Avant l'étape d'amplification et de détection, les acides nucléiques sont au préalable extraits avec le kit d'extraction Promega mSample preparation reagent kit d'Abbott avec le seuil de détection qui est de 40 copies/ml.

Confirmation sérologique

Pour certains patients (charge virale inférieure à 1000 copies/ml) une sérologie de confirmation a été effectuée à l'aide du test immunoblot, INNOLIA HIVI/II Score (Fujirebio). C'est un test immuno-enzymatique sur bandelette destiné à la détection des anticorps dirigés contre le VIH-1 (incluant le groupe O) et VIH-2. Il permet également de faire une différenciation entre les infections dues aux VIH-1 ou VIH-2.

Discrimination des différents variants de VIH

Le test de sérotypage pour discriminer le VIH de type 1 et de VIH de type 2, ainsi que les quatre groupes de VIH-1 (M, N, O et P) a été fait sur les 114 échantillons de plasma inclus dans l'étude. La méthode a été précédemment décrite et utilisée pour l'identification et / ou la discrimination du VIH et du virus de l'immunodéficience simienne (SIV) respectivement chez les humains et les primates non humains (16) (17). Ainsi, 0,25 µg de chaque peptide unique dilué dans un tampon bicarbonate 0,05 M, pH 9,6 ont été déposés dans chacun des puits de la plaque de microtitration, puis incubés à 37 ° C pendant 20 h. Après lavage avec une solution saline tamponnée au phosphate (PBS) contenant 0,5 % de Tween 20, les sites inoccupés ont été bloqués avec du PBS contenant 5 % de sérum de veau fœtal pendant 2 h à 37 ° C. Le plasma a été dilué au 1/100 dans une solution de PBS hypertonique (0,01 M de sodium 0,01 M, pH 7,4, contenant 0,75 M de NaCl, 10 % de sérum de veau fœtal et 0,5 % de Tween 20). Après incubation pendant 30 min à température ambiante, les plaques ont été

lavées et incubées avec de l'IgG anti-humain de chèvre conjuguée à la peroxydase pendant 30 min à température ambiante. Après un lavage supplémentaire, la réaction a été révélée avec du peroxyde d'hydrogène – o-phénylenediamine pendant 15 min à température ambiante dans l'obscurité. Le développement de la couleur a été arrêté en ajoutant 2 N H2SO4, et les densités optiques ont été lues à 492 nm.

Tableau 1 : Différents amorces utilisées

Orientation de l'amorce	Noms des amorces	Amorces
Premier round universel		
Sens	4235	CCCTACAATCCCCAAAGTCA AGG
Antisens	4538	TACTGCCCTTCACCTTTCCA
Second round spécifique M		
Sens	4241	TAGAATCTATGAATAAGAA TTAAAGAA
Antisens	4481	GCTGTCCCTGTAATAAACCC G
Second round spécifique O		
Sens	4241-O	TAGAAGCCATGAATAAGGA ATTTAAATC
Antisens	4391-O	TTTGTAATTCTGTTGTTTGTA TTTGTA

L'ADN proviral a été extrait à partir du culot sanguin collecté par extraction automatique avec l'Easymag de Biomerieux en utilisant le kit d'extraction nucléiques (Biomerieux) comme recommandé par le fabricant. Des PCR universelles connues pour amplifier l'ensemble des lignées VIH/VIScpz/VISgor à ce jour dans le gène codant pour la polymérase ont ensuite été effectuées pour détecter la présence d'ADN proviral du VIH. Plusieurs jeux d'amorces universelles et hautement sensible dans la région *pol* ont été utilisés (18) (19) dans le souci d'amplifier une grande variété de souches de VIH et VIS. Les différentes amorces utilisées sont représentées dans le tableau 1.

Analyses statistiques

L'analyse de caractéristiques sociodémographiques des données a été faite à l'aide du logiciel « Excel 2016 ».

RESULTATS

Caractéristiques de la population d'étude

Au total 114/204 (55,8 %) des patients non inclus de NAMSAL ont été inclus sur critères virologiques dans la présente étude : 49/114 (43 %) avaient une charge virale (CV) inférieure à 1000 copies/ml. Parmi ces 49 échantillons avec CV<1000 copies/ml, 40,8 % (20/49) avaient une charge virale indétectable et 59,2 % (29/49) avaient une charge virale comprise entre 40 et 1000 copies/ml]. Les 65 échantillons restants sur les 114 (57 %) présentaient une charge virale supérieure à 1000 copies/ml.

PCR universelle pour la détection de l'infection VIH

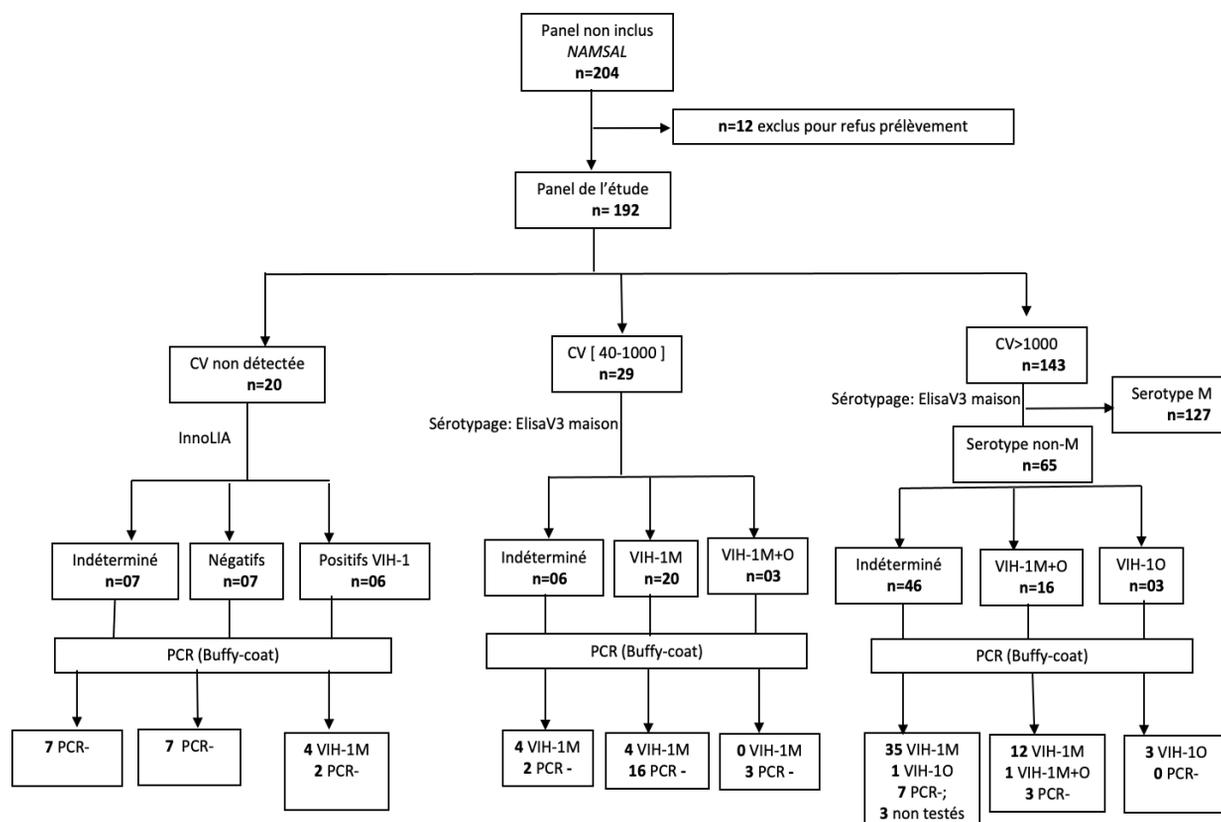


Figure 1 : Diagramme de description du profil des échantillons en fonction de la charge virale

Légende :- : négatif

Description du profil des échantillons en fonction de la charge virale (Figure 1)

Patients ayant une charge virale non détectée (n=20)

Au total, 20/114 (17,5 %) ont été testés par InnoLIA parce qu'ils avaient une charge virale non détectable afin de confirmer l'infection à VIH. Parmi ceux-ci, 7/20 (35 %) ont été confirmés VIH-1&2 négatifs, 7/20 (35 %) ont présentés un profil indéterminé avec une réactivité contre un seul antigène (gp41, gp120 ou p17) et 6/20 (30 %) ont été confirmés VIH-1 positifs. La PCR universelle d'identification et/ou de discrimination du VIH effectué sur ces patients négatifs et indéterminés en InnoLIA (n=14) était négative. Donc ces échantillons étaient probablement négatifs à l'infection au VIH. Par contre sur les 6 échantillons positifs au test InnoLia, 4/6 ont été testé positifs en PCR spécifique VIH-1M. Par contre 2/6 étaient négatifs en PCR.

Patients ayant une charge virale comprise entre 40 et 1000 copies/ml (n=29)

Au total 29/114 (25,4 %) ont été testés en Elisa V3, puis en PCR spécifique. Le test ÉliSa V3 effectué pour sérotyper tous les prélèvements avec une CV comprise entre 40 et 1000 copies/ml a montré que : 20/29 (69 %) étaient de sérotype VIH-1M ; 3/29(10,3 %) étaient VIH-1M+O ; 6/29 (20,7 %) étaient indéterminés. La PCR spécifique VIH-1 M était positive pour 8/29 (27,6 %) et négative pour 21 /29 (72,4 %). Cependant aucun échantillon n'a été amplifié en PCR spécifique VIH-1O.

Patients ayant une charge virale supérieure à 1000 copies/ml et sérotype non M (n= 65)

Les résultats du test ÉliSa V3 ont révélé les sérotypes suivants : 46/65 (70,7 %) indéterminés ; 16/46 (34,7 %) VIH-1M+O ; 3/46 (6,5 %) VIH-1O. La PCR universelle et spécifique a été effectuée sur ces échantillons. Les résultats pour les échantillons de sérotypes indéterminés montrent : 35/46 (76,1 %) VIH-1M, 1/46 (2,2 %) VIH-1O, 7/46 (15,2 %) négatifs en PCR et 3/46 (6,5 %) non testés. Cependant, pour les 16/65 (24,6 %) patients de sérotype VIH-1M+O, la PCR a montré que 12/16 (75 %) étaient VIH-1M, 1/16 (6,3 %) VIH-1M+O et 3/16 (18,7%) négatifs. Par ailleurs, les 3/3 (100 %) échantillons sérotypés VIH-1O ont été confirmés VIH-1O par la PCR spécifique.

D'après les résultats de PCR, 47/65 (72,3 %) des patients était infectés par le VIH-1 M, 4 /65 (6,2 %) par le VIH-1 O, et 1/65 (1,5 %) avait une coinfection VIH-1M+O. Cependant 13/65 (20 %) n'ont pas pu être caractérisés en PCR.

DISCUSSION

Le but de ce travail était de comprendre la non positivité de certains patients avec des charges virales non détectables à l'initiation au traitement. Au Total 114 sujets VIH positifs et naïfs de traitement antirétroviral ont été inclus dans cette étude. Tout d'abord la sérologie VIH a été confirmée par un test innoLIA, suivi d'un test de sérotypage discriminant les différents variants VIH et enfin des PCR universelle et spécifiques.

Initialement, 817 patients ont été pré-inclus dans NAMSAL. Sur divers critères, 204 patients sur les 817 pré-inclus n'ont

pas été retenus dans l'essai. Le présent travail a permis de montrer que 14/817 (1,71 %) patients supposés VIH positifs étaient en réalité négatifs à l'infection au VIH.

La connaissance du statut sérologique VIH contribue à limiter la propagation de l'épidémie en termes de protection de soi et de l'autre. Le dépistage constitue le socle de la stratégie du « test and treat » préconisé par l'ONUSIDA pour mettre fin à l'épidémie en 2030. De ce fait, Il est indispensable de connaître son statut VIH ; qui ouvre la voie au traitement, à la prévention et aux soins (20). D'où l'importance de continuer à améliorer la qualité de dépistage pour un diagnostic fiable et précis mais également, de l'étendre. Cependant au Cameroun, plusieurs études rapportent la présence de résultats erronés lors du dépistage de l'infection à VIH (21). Ce travail montre un taux de faux positif de 1,7 %. Ces résultats sont proches des 2 % de faux positifs reportés par Aghokeng et al en 2009 (22). Par ailleurs, une étude d'évaluation de l'algorithme de dépistage en Afrique subsaharienne a été réalisée en 2015. Les résultats pour le Cameroun rapportait un taux de sujets mal diagnostiqués (21), similaire (1,7 %) au nôtre. D'autre part, notre résultat est supérieur à celui observé dans une étude au Swaziland (23) et au Nigéria (24) qui était de 0,6 %. Ainsi, le problème de diagnostic erroné est rencontré dans plusieurs pays subsahariens et pose un défi dans la prise en charge.

Un résultat faussement positif peut être dû à plusieurs raisons : une réaction immunitaire croisée (défaut de spécificité du test), une lecture subjective des résultats (erreur humaine), une erreur lors de l'étiquetage ou encore une erreur technique au cours de la manipulation (erreur humaine). Afin d'atteindre les premiers 90 % du « test and treat »(25), les laboratoires devraient mettre en place un système de contrôle qualité dans le but de réduire le taux de résultats erronés.

Un résultat erroné peut avoir de graves conséquences : psychologique (risque de stigmatisation, réduction des opportunités d'emploi) (12) (26), budgétaire, sociale. Notons également une implication dans les résultats de recherche qui aboutissent à des conclusions erronées avec des conséquences en santé publique.

Dans cette étude, 4/20 (20 %) patients confirmés VIH positifs présentaient des charges virales indétectables. Ceci pourrait s'expliquer par des fausses informations données intentionnellement ou non sur leur statut sérologique, ou encore par la présence des "HIV-1 controllers" doté d'un contrôle de la répllication virale (27).

Enfin, 7,3 % (60/817) de patients VIH-1M ont été non détecté au sérotypage. Or, il serait important de connaître le groupe car l'orientation du traitement antirétroviral en dépend. Ce résultat met en exergue les limites du test à détecter toutes les souches circulantes dans un contexte de large variabilité génétique. D'où la nécessité de fabriquer les peptides plus spécifiques et sensibles.

CONCLUSION

Une proportion de 1,7 % de résultat VIH faussement positif a été reportée dans cette étude. Le dépistage précoce reste la meilleure possibilité de contrôler la propagation du virus. Cependant, cet outil inestimable dans les pays à ressources limités, devrait s'entourer d'une formation continue du

personnel associée à la mise en place d'un contrôle qualité au laboratoire.

Remerciements

Cette étude a été financée par l'IRD et UNITAID. Sa mise en œuvre a bénéficié de l'appui du laboratoire de virologie du CREMER. Nous tenons à remercier le groupe NAMSAL et tous les acteurs qui ont contribué à la réalisation de ce travail.

Conflits d'intérêts

Aucun

REFERENCES

1. ONUSIDA : Comprendre l'accélération, passer à la vitesse supérieure pour mettre fin à l'épidémie de sida D'ICI 2030 [Internet]. [cité 17 mars 2022]. Disponible sur : https://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/201506_JC2743_Understanding_FastTrack_fr.pdf
2. Coleman SM, Gnatienco N, Lloyd-Travaglini CA, Winter MR, Bridden C, Blokhina E, et al. False positive HIV diagnoses: Lessons from Ugandan and Russian Research Cohorts. *HIV Clin Trials*. févr 2018;19(1):15-22.
3. UNAIDS : Rapport d'activité sur la riposte au sida dans le monde [Internet]. [cité 17 mars 2022]. Disponible sur : https://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/JC2702_GARPR2015guidelines_fr.pdf
4. Kaleebu P, Kitandwe PK, Lutalo T, Kigozi A, Watera C, Nanteza MB, et al. Evaluation of HIV-1 rapid tests and identification of alternative testing algorithms for use in Uganda. *BMC Infect Dis* [Internet]. déc 2018 [cité 25 août 2020];18(1). Disponible sur : <https://bmcinfectdis.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12879-018-3001-4>
5. Basse O, Bond K, Adedeji A, Oke O, Abubakar A, Yakubu K, et al. Evaluation of nine HIV rapid test kits to develop a national HIV testing algorithm in Nigeria. *Afr J Lab Med*. 2015;4(1):1-17.
6. Mourez T, Lemée V, Delbos V, Delaugerre C, Alessandri-Gradt E, Etienne M, et al. HIV rapid screening tests and self-tests: Be aware of differences in performance and cautious of vendors. *EBioMedicine*. nov 2018;37:382-91.
7. Abongwa LE, Nyamache AK, Torimiro JN, Okemo P, Charles F. Human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) subtypes in the northwest region, Cameroon. *Virol J*. 15 août 2019;16(1):103.
8. Villabona-Arenas CJ, Domyeum J, Mouacha F, Butel C, Delaporte E, Peeters M, et al. HIV-1 group O infection in Cameroon from 2006 to 2013: Prevalence, genetic diversity, evolution and public health challenges. *Infect Genet Evol*. déc 2015;36:210-6.
9. Courtney CR, Agyingi L, Fokou A, Christie S, Asaah B, Meli J, et al. Monitoring HIV-1 Group M Subtypes in Yaoundé, Cameroon Reveals Broad Genetic Diversity and a Novel CRF02_AG/F2 Infection. *AIDS Res Hum Retroviruses*. avr 2016;32(4):381-5.
10. Kosack CS, Shanks L, Beelaert G, Benson T, Savane A, Ng'ang'a A, et al. HIV misdiagnosis in sub-Saharan Africa: performance of diagnostic algorithms at six testing sites. *J Int AIDS Soc*. 03 2017;20(1):214-19.
11. Lang R, Charlton C, Beckthold B, Kadivar K, Lavoie S, Caswell D, et al. HIV misdiagnosis: A root cause analysis leading to improvements in HIV diagnosis and patient care. *J Clin Virol*. nov 2017;96:84-8.
12. Shanks L, Klarkowski D, O'Brien DP. False Positive HIV Diagnoses in Resource Limited Settings: Operational Lessons Learned for HIV Programmes. Schindler M, éditeur. *PLoS ONE*. 20 mars 2013;8(3):e59906.
13. Kouanfack, Mpoudi-Etame, Bassega et al. Dolutegravir-Based or Low-Dose Efavirenz-Based Regimen for the Treatment of HIV-1. *N Engl J Med* [Internet]. 29 août 2019 [cité 17 mars 2022];381(9):816-26. Disponible sur : <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa1904340>
14. Tang N, Huang S, Salituro J, Mak W-B, Cloherty G, Johanson J, et al. A RealTime HIV-1 viral load assay for automated quantitation of HIV-1 RNA in genetically diverse group M subtypes A-H, group O and group N samples. *J Virol Methods*. déc 2007;146(1-2):236-45.
15. Plantier J-C, Leoz M, Dickerson JE, De Oliveira F, Cordonnier F, Lemée V, et al. A new human immunodeficiency virus derived from gorillas. *Nat Med*. août 2009;15(8):871-2.
16. Souquière S, Bibollet-Ruche F, Robertson DL, Makuwa M, Apetrei C, Onanga R, et al. Wild Mandrillus sphinx are carriers of two types of lentivirus. *J Virol*. août 2001;75(15):7086-96.
17. Aghokeng AF, Liu W, Bibollet-Ruche F, Loul S, Mpoudi-Ngole E, Laurent C, et al. Widely varying SIV prevalence rates in naturally infected primate species from Cameroon. *Virology*. 5 févr 2006;345(1):174-89.
18. Van Heuverswyn F, Peeters M. The origins of HIV and implications for the global epidemic. *Curr Infect Dis Rep*. juill 2007;9(4):338-46.
19. D'arc M, Ayoub A, Esteban A, Learn GH, Boué V, Liegeois F, et al. Origin of the HIV-1 group O epidemic in western lowland gorillas. *Proc Natl Acad Sci*. 17 mars 2015;112(11):E1343-52.
20. UNAIDS A : Rapport d'activité sur la riposte au sida dans le monde [Internet]. [cité 17 mars 2022]. Disponible sur : https://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/JC2702_GARPR2015guidelines_fr.pdf
21. Kosack CS, Page A-L, Beelaert G, Benson T, Savane A, Ng'ang'a A, et al. Towards more accurate HIV testing in sub-Saharan Africa: a multi-site evaluation of HIV RDTs and risk factors for false positives: Kosack CS et al. *J Int AIDS Soc*. 2017;20(1):21345.
22. Aghokeng AF, Mpoudi-Ngole E, Dimodi H, Atem-Tambe A, Tongo M, Butel C, et al. Inaccurate Diagnosis of HIV-1 Group M and O Is a Key Challenge for Ongoing Universal Access to Antiretroviral Treatment and HIV Prevention in Cameroon. *Pai NP*, éditeur. *PLoS ONE*. 6 nov 2009;4(11):e7702.
23. Khan S, Mafara E, Pasipamire M, Spiegelman D, Mazibuko S, Ntshalintshali N, et al. Identification of misdiagnosed HIV clients in an Early Access to ART for All implementation study in Swaziland. *J Int AIDS Soc*. août 2017;20:21756.
24. Audu RA, Okoye RN, Onwuamah CK, Ige FA, Musa AZ, Odunukwe NN, et al. Potential for false-positive HIV test results using rapid HIV testing algorithms. *Afr J Lab Med* [Internet]. 13 mai 2015 [cité 25 août 2020];4(1). Disponible sur : <http://ajlmonline.org/index.php/ajlm/article/view/178>
25. UNAIDS B : Rapport d'activité sur la riposte au sida dans le monde [Internet]. [cité 17 mars 2022]. Disponible sur : https://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/JC2702_GARPR2015guidelines_fr.pdf
26. Simoncini GM, Megill M, van den Berg-Wolf M. Reducing False-Positive HIV Diagnosis in Niger: A Women's Issue. *J Int Assoc Provid AIDS Care* JIAPAC. janv 2016;15(1):15-8.
27. Gebara NY, El Kamari V, Rizk N. HIV-1 elite controllers: an immunovirological review and clinical perspectives. *J Virus Erad* [Internet]. [Cité 17 mars 2022];5(3):163-6. Disponible sur : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6816117/>