

CHU Saint Louis Paris

Dépistage et confirmation des infections par VIH en France

Prof François Simon CHU Saint Louis, Faculté de Médecine Paris -Diderot

francois.simon@sls.aphp.fr

CONFLITS D'INTERET 2008 - 2012 FRANÇOIS SIMON & VIROLOGIE ST LOUIS, PARIS

Il n'existe aucun conflit d'intérêt entre ma personne, le service de microbiologie du CHU Saint-Louis de Paris et le laboratoire Bio-Rad

PLAN DE LA PRÉSENTATION

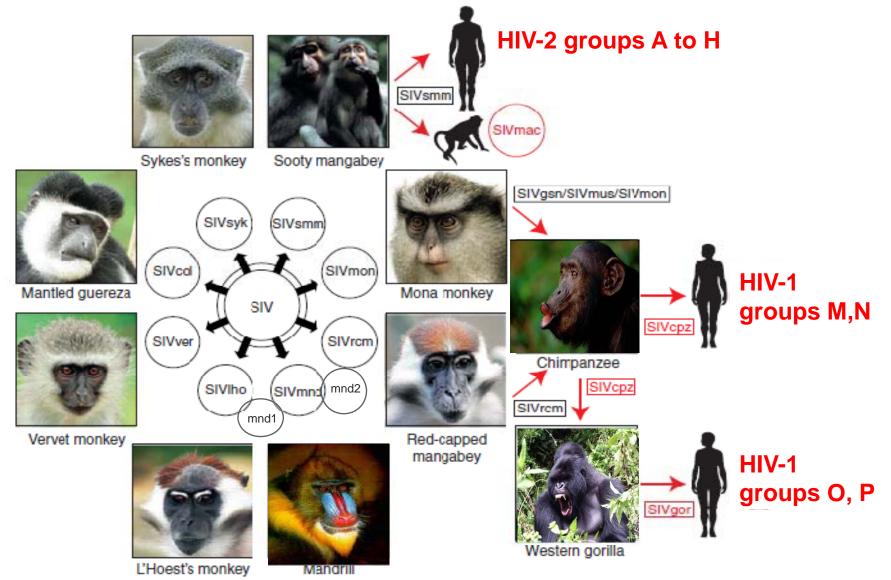
 Diversité génétiques des VIH = conséquences antigéniques pour le diagnostic

 Situation épidémiologique en France et recommandations pour le dépistage VIH

 Les contraintes du dépistage et de la confirmation : primo-infection et variants VIH

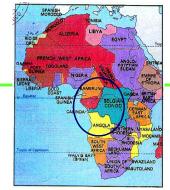
Perspectives

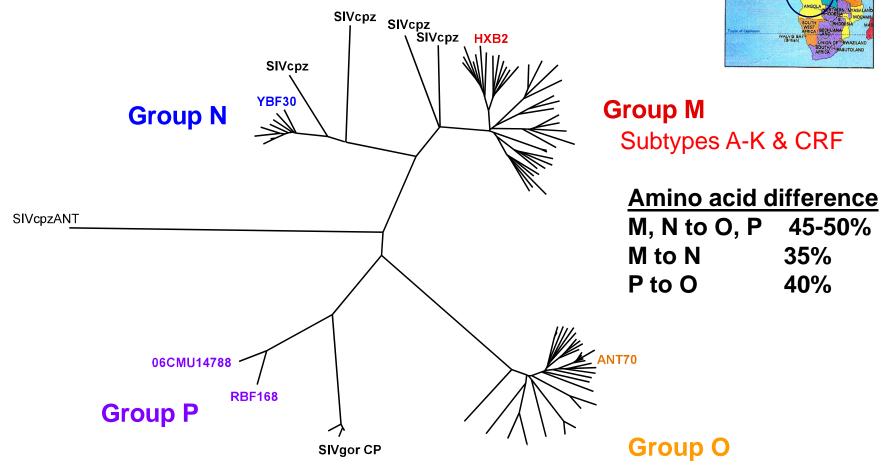
ORIGINES DES SIV/HIV : RECOMBINATION & TRANSMISSIONS INTER-ESPÈCES



Adapted from P Sharp, B Hahn, Cold Spring Harb Perspect Med 2011;1: a006841

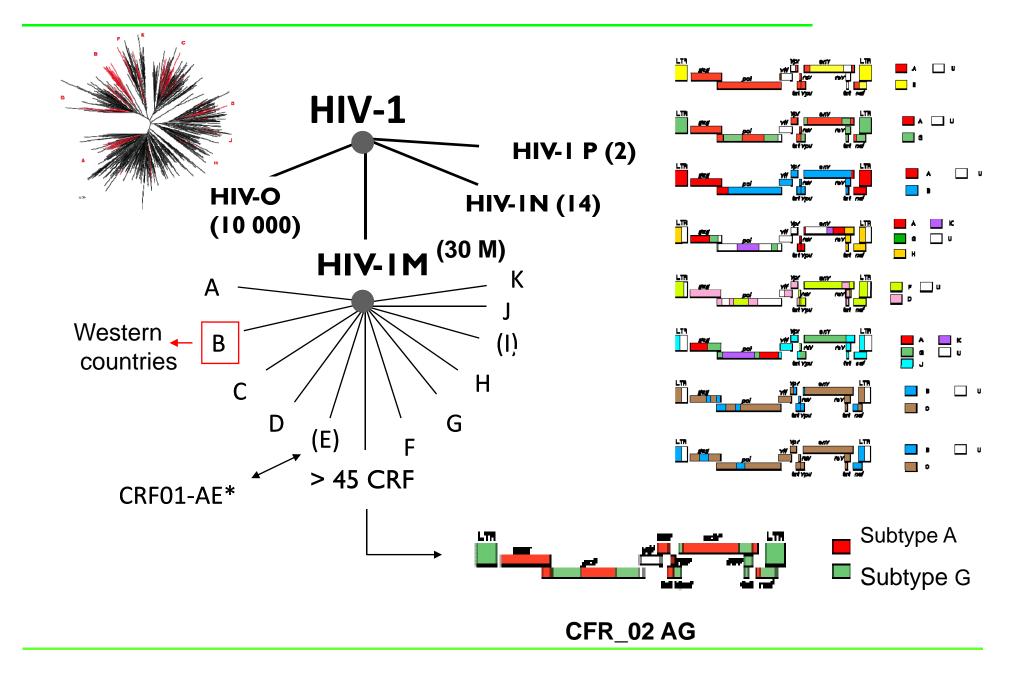
THE M,N,O,P HIV-1 GROUPS: PHYLOGENETIC TREE *ENV* GP41 (979 NT)





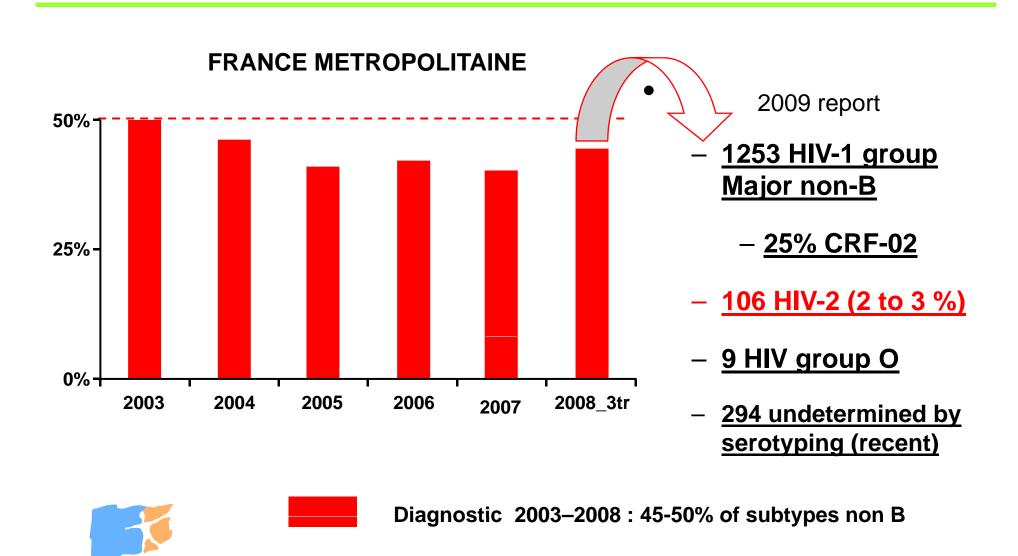
ORIGINS OF HIV-2 GROUPS IN WEST AFRICA **AND A LIMITED SPREAD** SANTIAGO ET AL. SENEGAL MALI **BURKINA FASO** -TAI29 -TAI37 GUINEA TAI31 Al31 —TAl32 —TAl11 —TAl13 —HIV-2/G HIV-2 A SL93g — HIV-2/A -HIV-2/A HIV-2/B - HIV-2/B COTE D'IVOIRE SL92A SL93-134 SL92d SL92e SL92r SL93-080 Harbel **GHANA** SL92e -SL93-135 TAI22 CI2 HIV-2/C TAI35 -- TAI3 SIVmac . G932 D177 D215 - CFU212 -FTq -E660 - LIB1 Bro85 G078 SL93-080 HIV-2 B SL92d SL93-057 SL93-119 SL93-063 - HIV-2/E SL92b SL920 - HIV-2/F Adapted from P Sharp, B Hahn, Cold Spring Harb Perspect Med 2011;1: a006841

HIV-1 SUBYPES AND CRFS, May 2012



SITUATION EPIDEMIOLOGIQUE EN FRANCE

VEILLE SANITAIRE



SITUATION EPIDEMIOLOGIQUE EN FRANCE

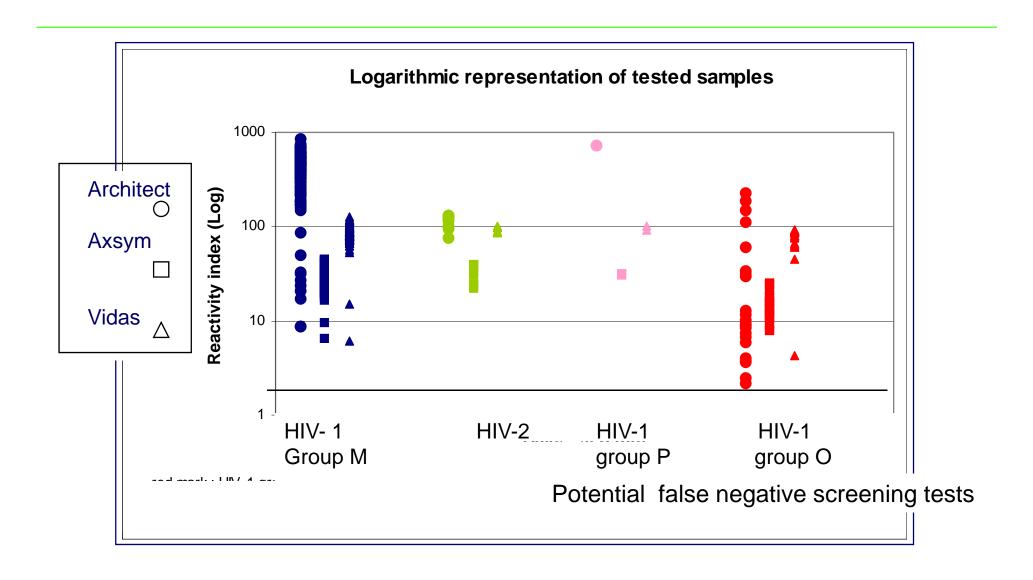
 La proportion d'infections récentes (< 6 mois) est de 23,6% (IC 95% [22,8 – 25,4]).

 chez les personnes contaminées par rapports homosexuels : 41% vs. 17% en cas de contamination par rapports hétérosexuels)

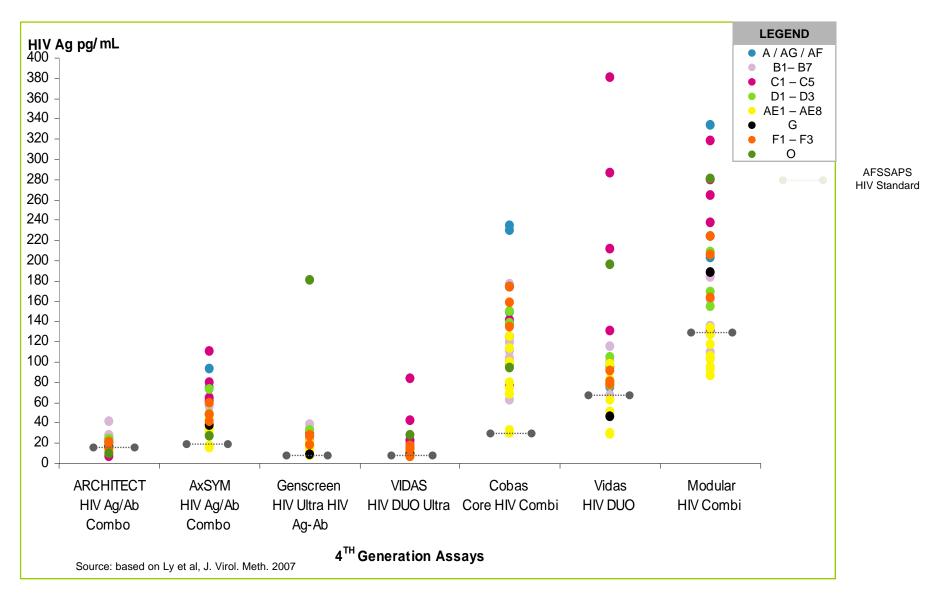
CONSÉQUENCES DE LA VARIABILITÉ DES SOUCHES HIV

- Résistance naturelle aux INNRT des VIH-2 et VIH-0
- Monitoring des charges virales et génotypages des souches non HIV-1 ss type B
- La diversité génétique VIH entraine une variabilité des antigènes
- Les souches infectantes induiront des anticorps dont les idiotypes seront moins affins vis à vis des antigènes "standard HIV-1 sous type B " des tests de dépistage

ANTICORPS HIV- NON B & HIV- 2 EN 4eme GENERATION EIA

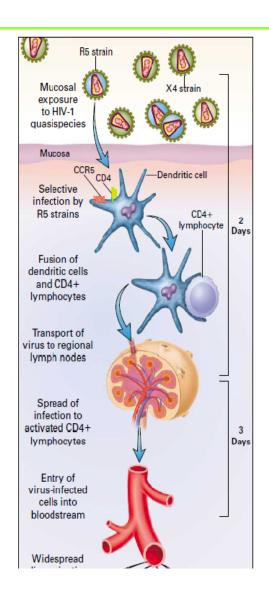


Antigen Subtype Sensitivity of different HIV Ag/Ab combination assays



LE DEPISTAGE VIH : contraintes et confirmation de l'infection

1- PERIODE D' ECLIPSE



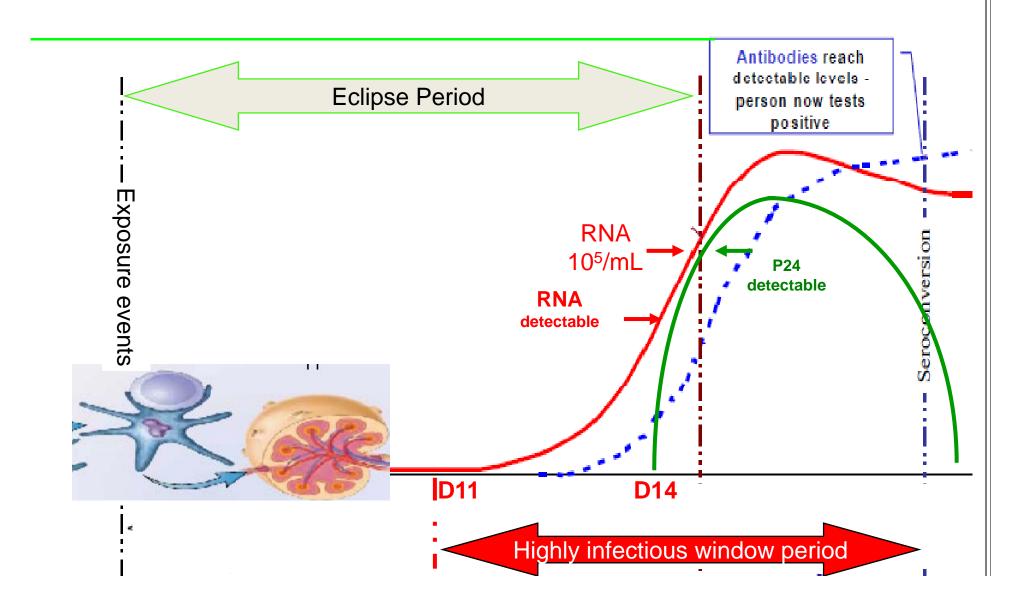
HIV Eclipse period is characterized by undetectable viral and serologicial markers in blood samples

From the infection to the first PCR positive

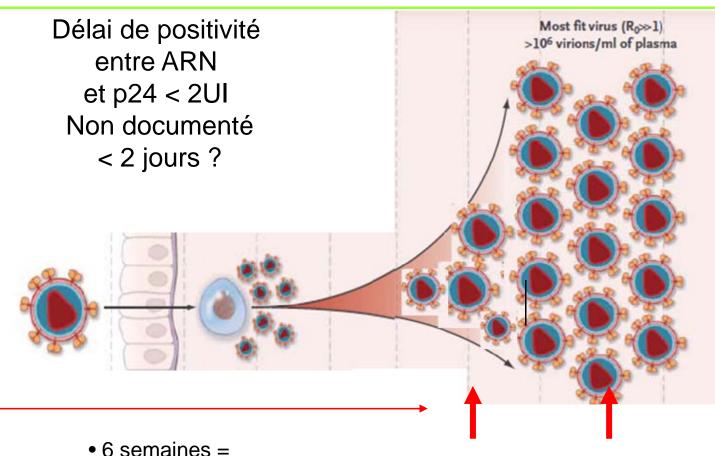
HIV infections well documented during this period (US blood bank)

Kahn JO, Walker BD. N Engl J Med 1998, 339:33-39.

THE ECLIPSE AND PRIMARY INFECTION



LA FENÊTRE SÉROLOGIQUE : CHARGE VIRALE & Ag p24



•durée moyenne de la fenêtre sérologique + 2 semaines incertitudes des performances des tests combinés (non -B)

Charge virale + 20 copies/mL

Ag p24 -

Charge virale + > 30 000 copies Ag p24 +

FAILURE OF HIV 4th GENERATION ASSAYS IN EARLY HIV-1 CRF 02 PRIMARY INFECTION, PARIS February 2012

14/02/2012

MSM, Paris, US citizen, 22 YO Student,

Anorectite - Gonococcia +

Architect: NEG (index 0.42)

HIV EIA 4th gen | Vidas: NEG (index Ag=0.16-Ac=0.07)

Genscreen: NEG (index 0.75)

HIV VL = 25320 copies/ml

21/02/2012

Flu syndrome

POS (index 179) Architect: > 10⁷ copies/mL HIV VL =

WB negative

HIV-1 group M CRF02_AG

receptive sex Unprotected

MODIFICATION DES RECOMMANDATIONS DU DÉPISTAGE VIH EN FRANCE JUIN 2010

- Le dépistage VIH se fait isolément sur le sérum ou le plasma de chaque individu avec un <u>EIA marquée CE</u> et à lecture objective de détection combinée des anticorps anti-VIH 1 et 2 et de <u>l'ag p24 au seuil</u> <u>de 2 UI / mL</u>
- Si positif, <u>confirmation par western blot</u> ou immunoblot réalisée à l'initiative du biologiste médical <u>sur le même échantillon</u> sanguin et permet de <u>différencier une infection à VIH 1 ou à VIH 2</u>
- Si confirmation négative ou douteuse : détection de l'antigène p24 du VIH 1 avec un réactif CE (seuil 2 UI/mL) et neutralisation si +
- Lorsqu'il en a la possibilité, le biologiste médical peut réaliser à la place de cette détection, une recherche d'ARN viral plasmatique du VIH 1.



RECOMMANDATIONS EN SANTÉ PUBLIQUE

" on peut raisonnablement estimer que le risque d'un résultat faussement négatif 6 semaines après une exposition possible au VIH,

bien que non nul, est très réduit "

SYNTHESE ET RECOMMANDATIONS

Octobre 2009

Document non soumis à relecture typographique

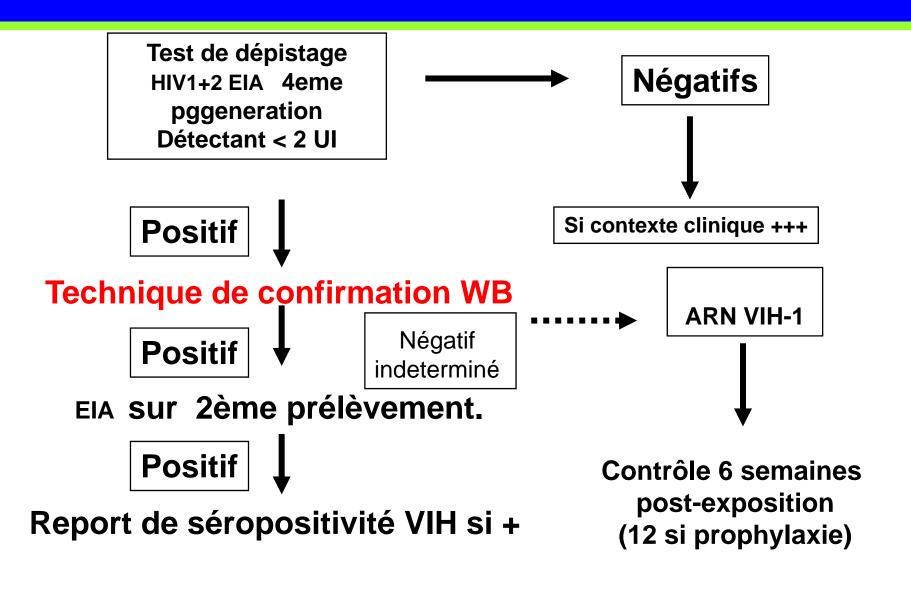
Avec la participation de



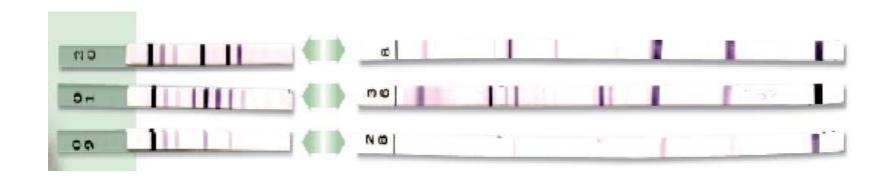




Réalisé par LABM



la confirmation des infections VIH par Immunoblot ou Western Blot (?)

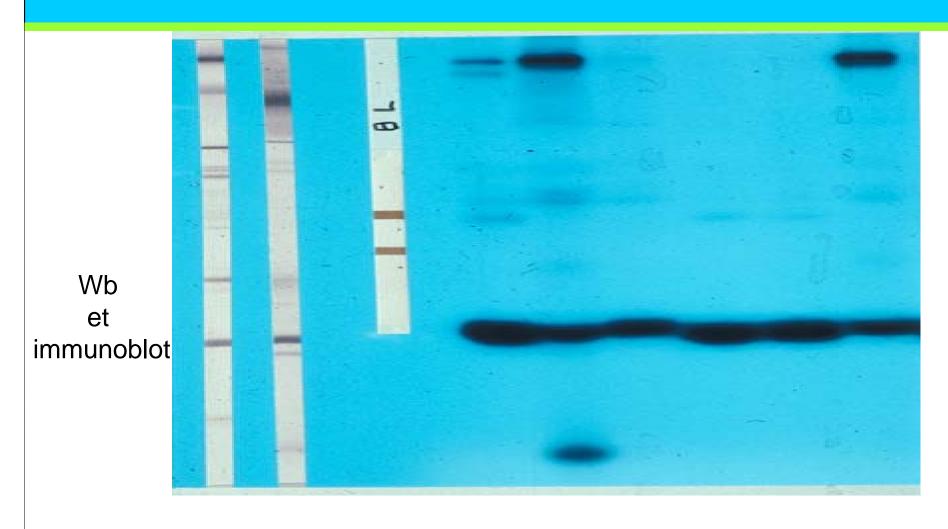


Antigènes de synthèse

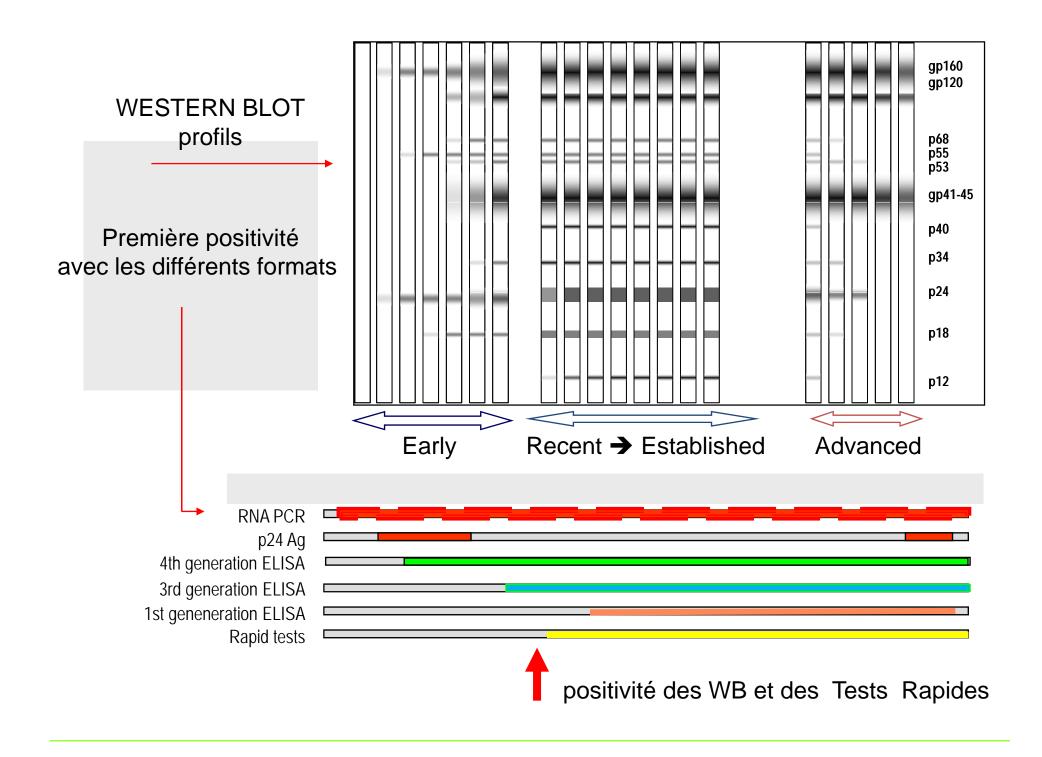
Inno LIA

Antigènes de lysat viral New Lav blot

Exemple d'un radiomarquage VIH -1 et VIH-2 Suivi d'immuno précipitation (RIPA)



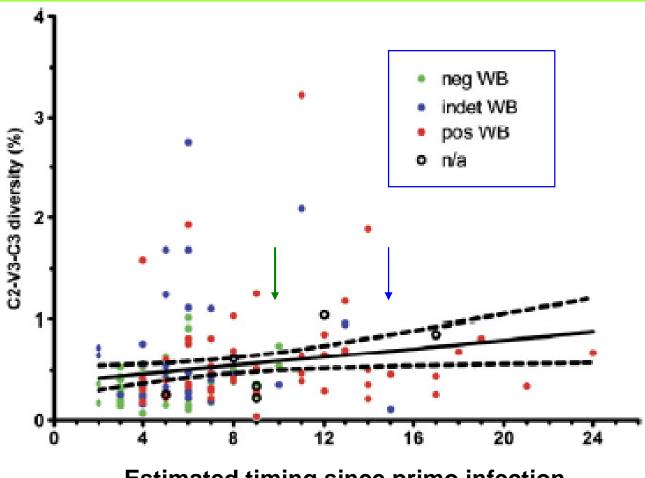
Radio immuno précipitation sur des antigènes VIH1 et VIH-2



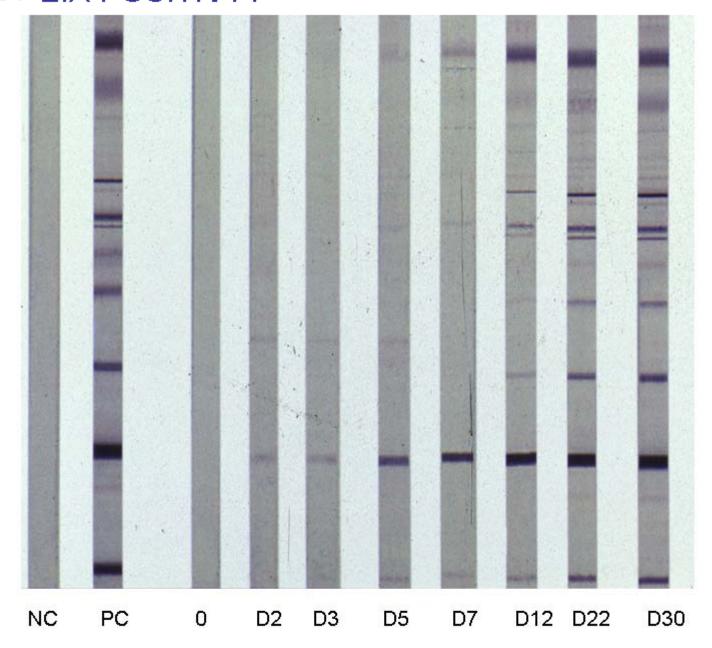
1- difficultés et les limites de la confirmation du diagnostic

Les Primo – infections VIH

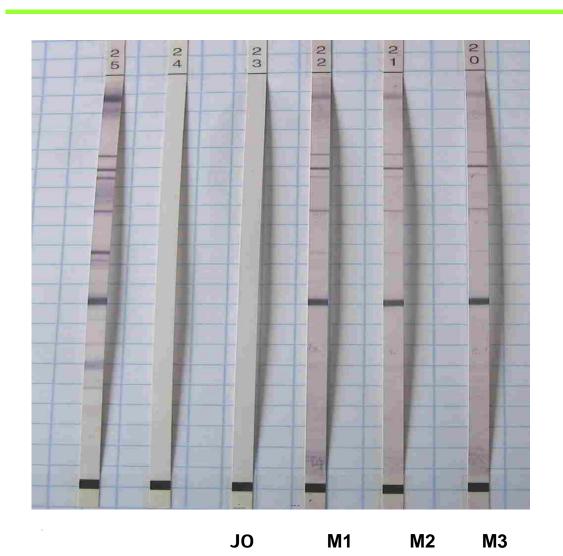
HIV EARLY INFECTION ANTIBODIES DETECTABILITY: a large individual variability: from days to months With low affinity antibodies



ANTIBODY KINETIC ONTO WESTERN BLOT SINCE THE 1ST EIA POSITIVTY



RETARD DE DETECTION DES ANTICORPS ANTI-VIH1 LORS D' UNE PRIMO INFECTION CHEZ UN PATIENT CAUCASIEN infecté par VIH-1 GROUPE M, SOUS-TYPE A

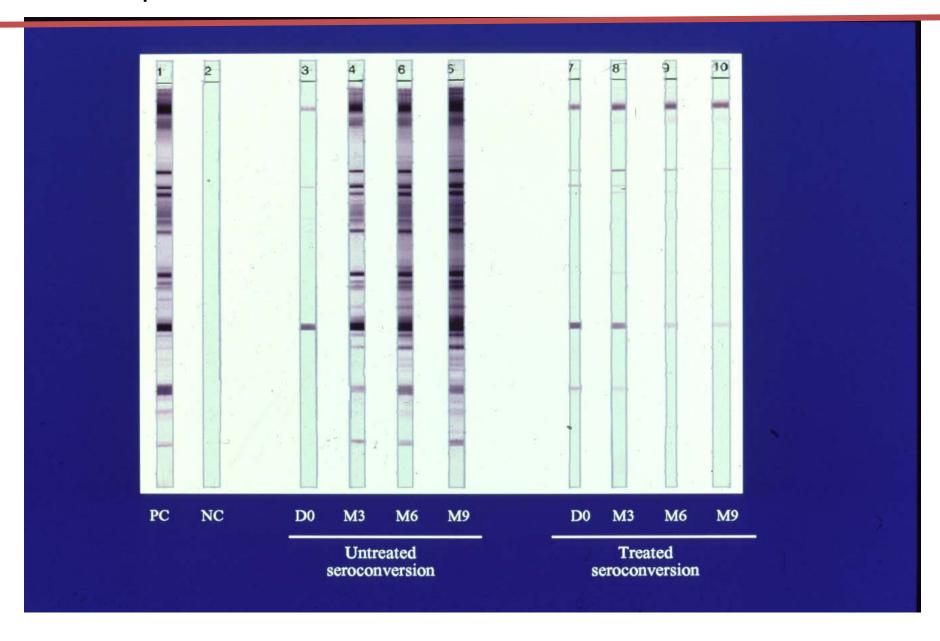


westerns blots évoluent très lentement sur plusieurs mois

négativité paradoxale des examens de charges virales

Confirmation après plusieurs tentatives PCR ADN proviral ss type A

Impact du traitement sur la séroconversion

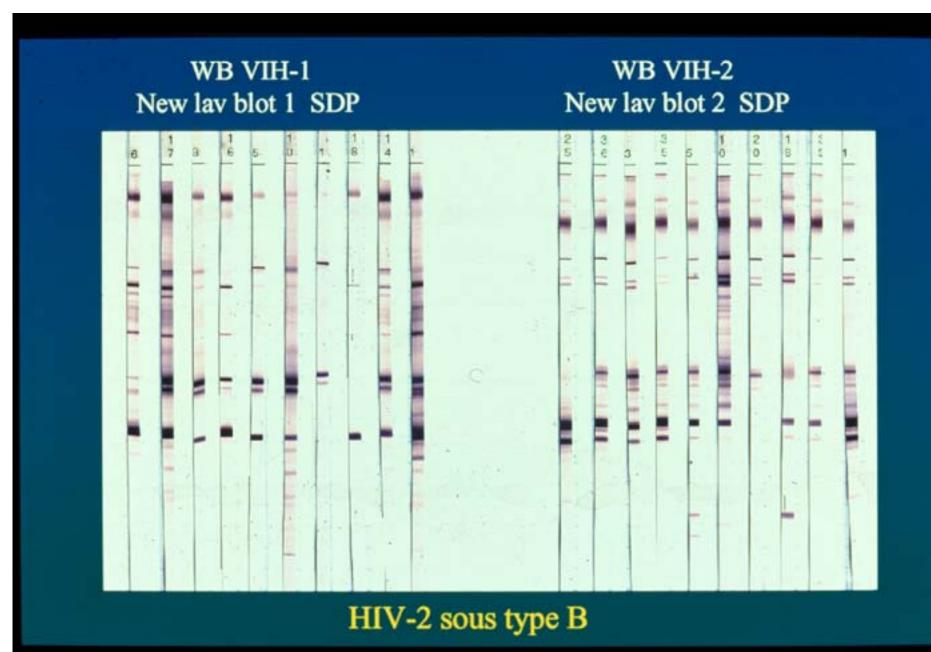


Difficultés et les limites de la confirmation du diagnostic

2- Les infections par VIH-2

8

les doubles infections VIH-1+VIH-2

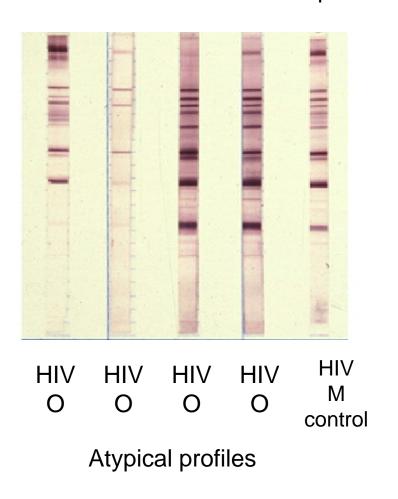


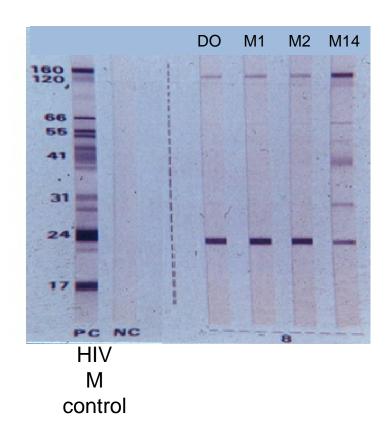
Les difficultés et les limites du diagnostic sérologique des infections par VIH

3- Les Variants VIH-1 des groupes O

HIV- 1 GROUP O AND ATYPICAL WESTERN BLOT

sera from 4 HIV-O infected patient



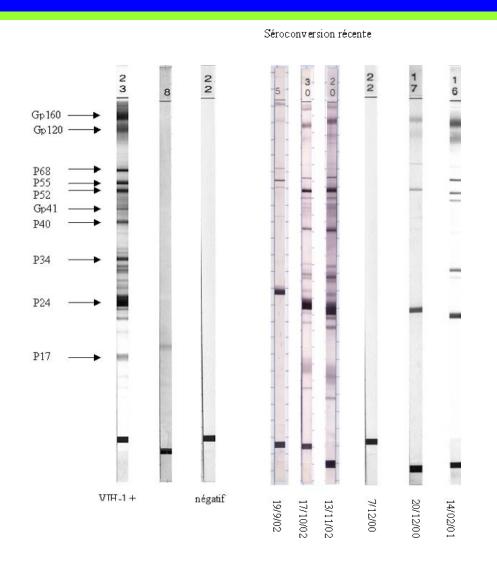


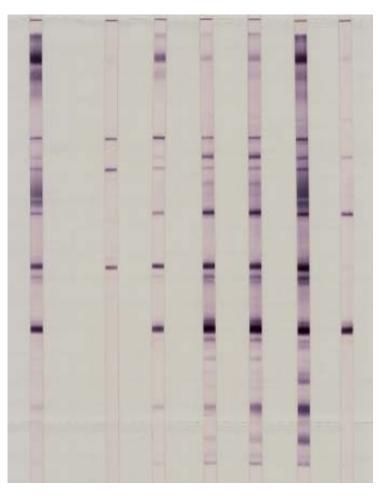
Low antibodies reactivity during PI

Les difficultés et les limites du diagnostic sérologique des infections par VIH

4- Les indéterminés en sérologie et biologie moléculaires

Réactivités WB et variabilité VIH



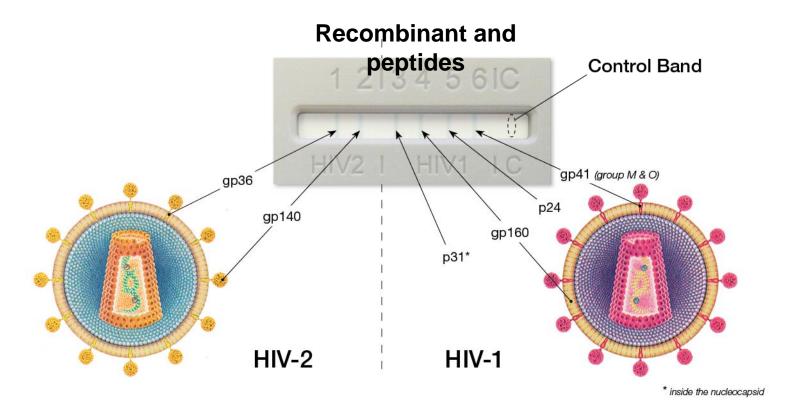


Profils incomplets ++

SYSTEME GEENIUS™ HIV 1/2

- un nouveau concept pour la confirmation et différenciation des infections **HIV-1 and HIV-2**
- sérum, plasma ou sang total
- Confirmation à la demande unitaire traçabilité complète et sécurisée (code barre, 2D, caméra, Connexion informatique stockage des images et des résultats

GEENIUS™ HIV 1/2 CONFIRMATORY TECHNOLOGY

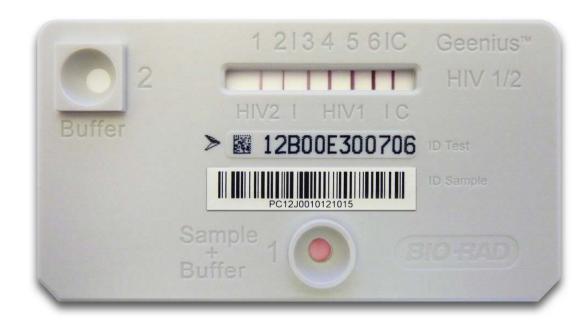




GEENIUS™ HIV 1/2 CONFIRMATORY TECHNOLOGY

Datamatrix Barcode

- Positive identification of both cartridge and patient ID
- Link between patient ID and cartridge ID: 1 cartridge for 1 patient



GEENIUS™ HIV 1/2 CONFIRMATORY TECHNOLOGY

line 1: gp36 (HIV-2, envelope peptides):

line 2: gp140 (HIV-2, envelope peptide):

line 3: p31 (HIV-1, polymerase peptide)

line 4: gp160 HIV-1, full length envelope recombinant protein

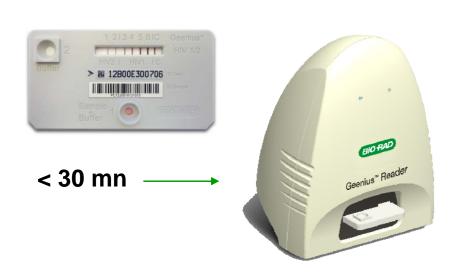
line 5: p24 HIV-1, core recombinant protein

line 6: gp41 (Group M & O) (HIV-1, envelope peptides)

line 7: Control Band band (Protein A)

Positivity Criteria	Geenius HIV 1/2 Confirmatory Assay				
Positive HIV-1	1 ENV HIV-1 + (GAG or POL) 2 ENV HIV-1				
Positive HIV-2	2 ENV HIV-2				
Negative	No band				

Geenius™ HIV 1/2 Confirmatory





- Positive identification of both cartridge and patient ID
- Link between patient ID and cartridge ID: 1 cartridge for 1 patient



HIV-2 Result	HIV-1 Result	Global Visual Assay	
Interpretation	Negative	Negative	
HIV Negative	Indeterminate Negative	HIV-2 Indeterminate	
Negative	Indeterminate	HIV-1 Indeterminate	
Indeterminate	Indeterminate	HIV Indeterminate	
Negative	Positive	HIV-1 Positive	
Indeterminate	Positive	HIV-1 Positive	
Positive	Negative	HIV-2 Positive	
Positive	Indeterminate	HIV-2 Positive	
Positive	Positive Case 1: 1 ENV HIV-1 (gp160 or gp41) + GAG or POL Case 2: 2 ENV HIV-1 (gp160 and gp41) ± GAG/POL	HIV-2 Positive (with HIV-1 cross-reactivity) HIV Positive Untypable	

GEENIUS EVALUATION in Hop. St LOUIS JULY / AUGUST 2012 SPECIFICITY AND ROUTINE SAMPLES

GEENIUS PERFORMANCE IN 100 ROUTINE SAMPLES, July 2012 HIV SCREENING ARCHITECT HIV 1/2

	GEENIUS REACTIVITY								
		HIV-2		HIV-1					
		gp 36	gp 140	p 31	gp 160	P24	gp41		
-	91 EIA	-	2	-	-	-	-		99 9
=	7 HIV-1+	-	-	7	7	5	7		100 9
•	2 Primary Infection*	-	-	1	1	0	1		50 %

GEENIUS EVALUATION in Hop. St LOUIS JULY / AUGUST 2012

HIV-O,HIV-2 SENSITIVITY



HIV-2 AND HIV-O DETECTION								
	gp 36	gp 140	p 31	gp 160	p 24	gp 41		
30 HIV-2	30	30	18	14	22	14		100
10 HIV-O	0	0	7	7	6	10		100

GEENIUS EVALUATION in Hop. St LOUIS JULY / AUGUST 2012 WHOLE BLOOD SENSITIVITY



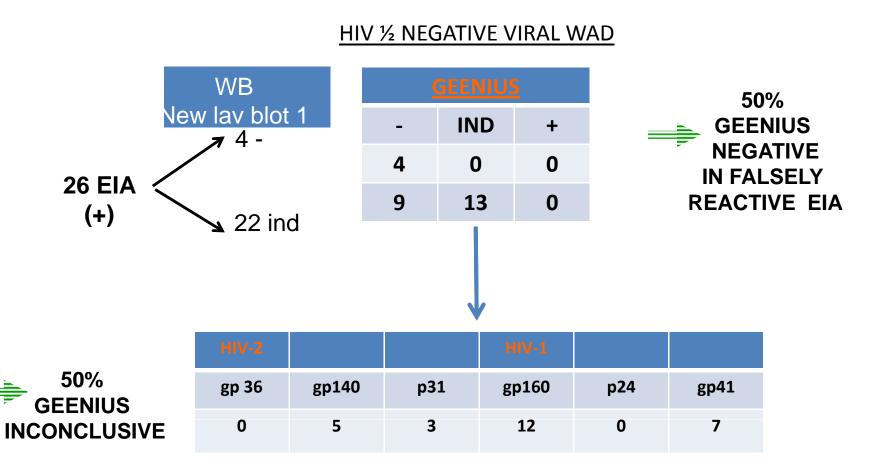
40 PAIRED HIV-1 POSITIVE WHOLE BLOOD AND PLASMA

100 %

40/40 CONCORDANCE IN REACTIVITY BETWEEN PLASMA AND WHOLE BLOOD

GEENIUS EVALUATION in Hop. St LOUIS PARIS, JULY / AUGUST 2012

26 FALSE 4th EIA REACTIVITY AND INDETERMINATE WESTERN BLOT



GEENIUS™ HIV 1/2 CONFIRMATORY

Innolia	Geenius
18h ou 4h30	< 30 mn
16 étapes	3 étapes (avec la lecture/interprétation)
Utilisation en série	Test unitaire
2 à 3 contrôles par série	Pas de contrôle requis (Seulement une fois par nouveau lot)
Interprétation possible via un scanner puis un logiciel d'interprétation	Interprétation Automatique

Traçabilité, +++, sang total (Afrique), meilleure différenciation HIV-2

CHARGES VIRALES & CONFIRMATION VIH?

- - GRANDE DIVERSITE GENOMIQUE DES VIH : PRUDENCE
- TESTS SUR LA BASE DES SOUS TYPES B
- AMORCES ET SONDES VARIENT D'UN TEST A L'AUTRE
- SENSIBILITES DIFFERENTES
- SPÉCIFICITÉ PEU ETUDIEE
 - UNE CHARGE VIRALE + COMME TEST DE CONFIRMATION ??
 - A PARTIR DE QUEL SEUIL ???







VIH ET AUTO TESTS

NOUVEAU PARADIGME

- Liberté du sujet > à sa biologie
 - Alternatives en Afrique, très limitée en France
 - Economique
 - Confidentialité
 - prevention mère –enfant
 - Risques de dérive
 - réels ou non ??
 - Perte du contrôle épidémiologique

Les auto tests: RAISONNABLE ou non?

Volontaire

PRO

- Liberté du <u>choix du lieu</u> de réalisation : individiduel ou communautaire
- Confidentiel, anonyme
- Très fort taux de non retour pour récupérer ses résultats
- information <u>immediate</u>
 - TME
 - Tester et traiter!
- <u>Economie</u> de temps pour le système de sante
- Un encadrement possible
- <u>Une sélection de tests validés scientifiquement</u>
- Une ouverture pour le conseil

CONTRE

sensibilité moindre

Qualité des tests à surveiller

Manque la primo infection la période la plus à risque

Baisse de la prévention ?

Fort taux de faux +

interpretation pas toujours évidente

psychologie - suicide

management des déchets

Ethique : pression intra familial, intra professional

Surveillance épidémiologique



MAIS LA PRIMO INFECTION RESTE UN OBSTACLE POUR LES TDR













	genotype	Oraquick sang	Vikia	Determine	INSTi	Determine 4th GEN Ag +Ab
67 (primary * infection)	В	N	N	N	N	N
73 (primary infection)**	F	N	N	N	+/-	N
184 (primary infection 3 months ago)	В	+	+	N	+	N

^{*} Ag P24 = 380 pg/mL

^{**} Ag p24 not detectable

LES STRATEGIES A VENIR

- "Opt Out" dépistage, HIV généralisé, accès à l'auto test?
- Nouvelles stratégies de confirmation
- "Test and Treat ": généralisation de l'HAART pour tous les séropositifs
- Contrôle de la transmission Mère-Enfant
- Microbicides
- Nouveaux antirétrorivaux, nouvelles galéniques
- "PreP": Prophylaxie pré exposition



Remerciements



CHU Saint Louis Paris Séverine Mercier-Delarue Marie Laure Néré Constance Delaugerre Sarah Maylin

L'ensemble de l'équipe Bio-Rad

