

**Nouvelles dispositions pour le diagnostic de
l'infection à VIH :
de la réglementation à la pratique au laboratoire.**

Dr Syria LAPERCHE

Centre National de Référence des Hépatites B et C et du VIH en Transfusion

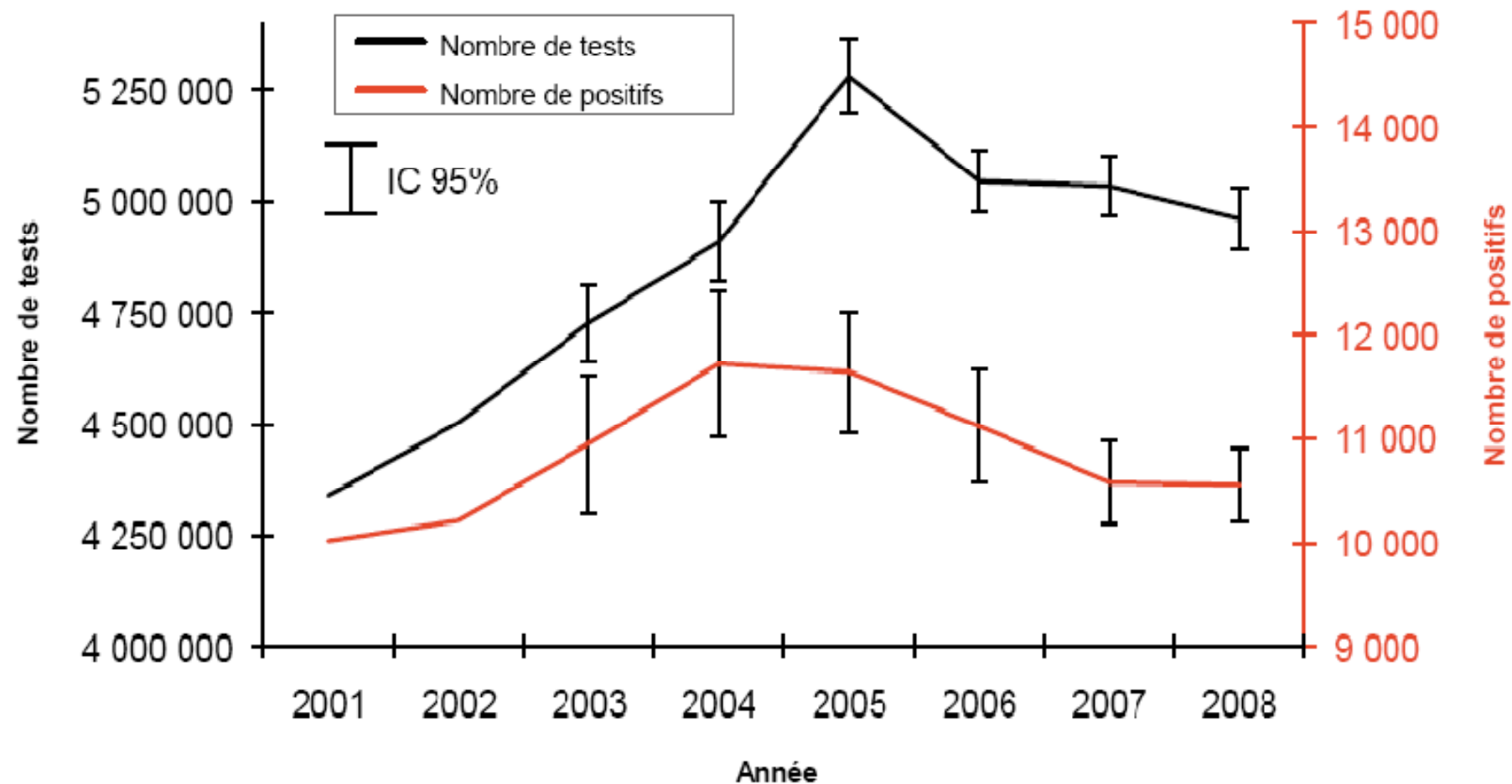
Institut National de la Transfusion Sanguine, Paris

39 ème colloque national des biologistes des hôpitaux

5 octobre 2010

Surveillance de l'activité du dépistage VIH en France

Figure 1. Sérologies VIH réalisées et sérologies confirmées positives, France, 2001- 2008



Diagnostic biologique de l'infection à VIH

Arrêté du 28 mai 2010

Article 1

- Diagnostic basé sur la mise en œuvre d'un réactif, revêtu du marquage CE, utilisant une technique ELISA à lecture objective de détection combinée des anti VIH-1/-2 et de l'Agp24 avec un seuil de détection de l'Agp24 du VIH-1 de 2 UI/ml
- En cas de positivité : mise en œuvre d'une analyse de confirmation (WB ou IB) capable de différencier VIH-1 et VIH-2
- Si analyse de confirmation négative ou douteuse : recherche de l'Agp24 (+ neutralisation) ou ARN-VIH

Diagnostic biologique de l'infection à VIH

Arrêté du 28 mai 2010

Article 4

Tous les laboratoires devront se conformer à cette obligation à compter du 1er décembre 2010.

Il est toutefois consenti durant la période transitoire des mesures alternatives :

1) jusqu'au 30 septembre 2010

l'utilisation de deux réactifs mixtes (VIH 1 et 2) différents.

2) entre le 1^{er} octobre et le 30 novembre 2010

l'utilisation

- d'un test ELISA mixte (VIH 1 et 2) et

- d'un test de détection de l'antigène p24 du VIH 1 avec un seuil minimal de détection de l'antigène p24 du VIH 1 de 2 UI/ml.

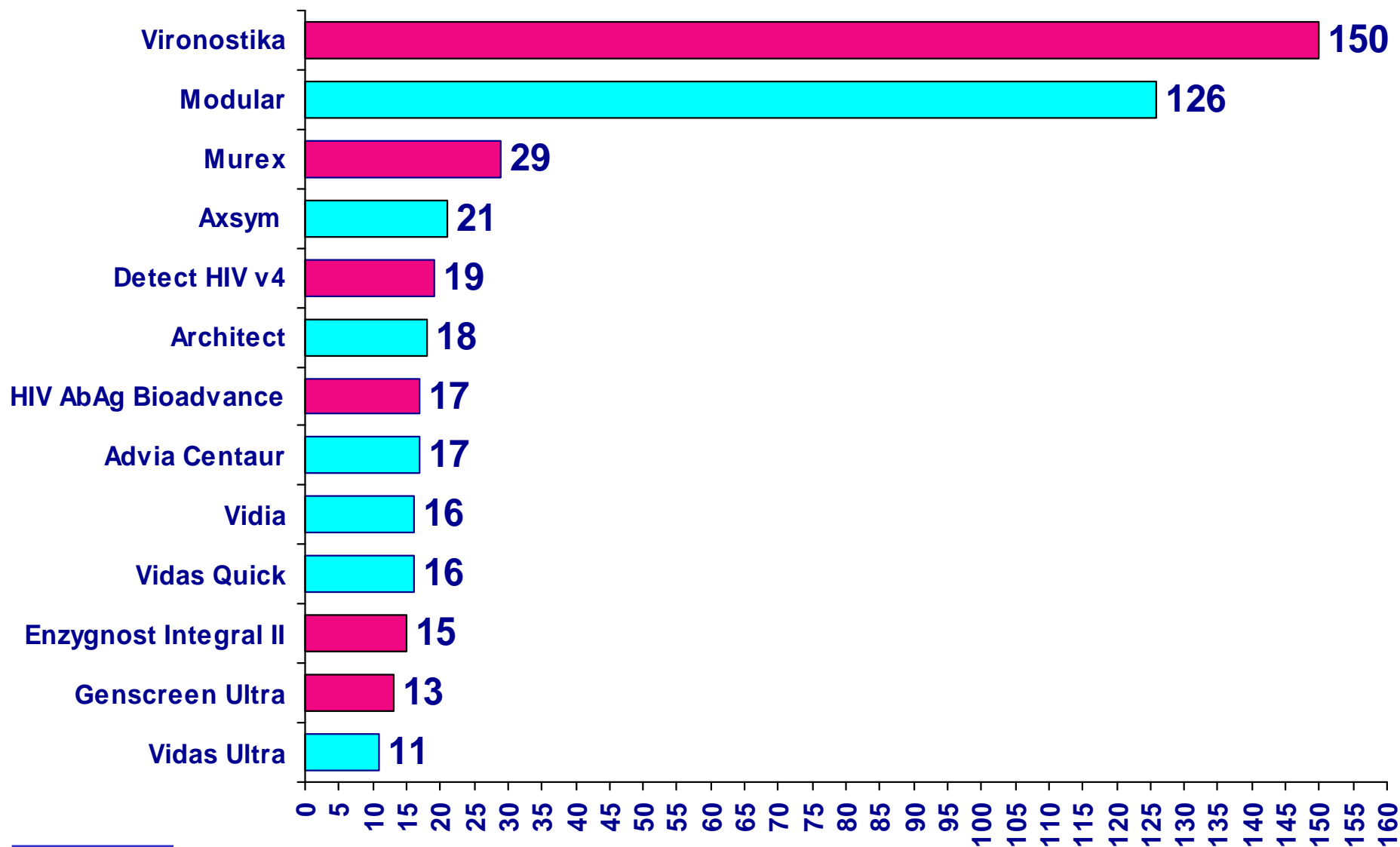
Questions

- **Quel est le niveau de sensibilité analytique des tests de combinés disponibles en France?**
- **Le seuil de sensibilité imposé à 2 UI/ml est-il respecté quelque soit le génotype rencontré ?**
- **Quelle stratégie de confirmation adopter dans la période transitoire en cas d'utilisation séparée d'un test anticorps (voire combiné) et d'un test Ag p24 ?**
- **Comment assurer une différenciation optimale entre une infection par le VIH-1 et une infection par le VIH-2 ?**
- **Que devient la place du TDR dans le dépistage de l'infection ?**
- **Quid de la nomenclature (2 tests 5 nov 2003, B60 5 déc 2008) ?**

Caractéristiques des tests EIA Ag/Ac VIH disponibles en 2010

Année CE	Trousses	Distributeur	Format de réaction	Tps	Vol µl
1998	Viro. Ag/Ab	Bio Mérieux	microplaque	90 mn	50
2001	Murex HIV Ag/Ab	Dia Sorin	microplaque	120 mn	100
2002	Axsym HIV Ag-Ab	Abbott	automate	26 mn	100
2004	Architect HIV Ag-Ab	Abbott	automate	29 mn	100
2004	Vidas Duo Ultra/Quick	Bio Mérieux	automate	120/80 mn	200
2004	Modular HIV Combo	Roche	automate	16 mn	30
2005	Gen. Ultra HIV Ag-Ab	Bio-Rad	microplaque	120 mn	75
2006	Detect HIV v4	Adaltis	microplaque	120 mn	100
2006	Integral HIV II	Siemens	microplaque	120 mn	100
2008	VIDIA HIV Duo	Bio Mérieux	automate		
2009	ADVIA CENTAUR	Siemens	automate	58 mn	100
2010	HIV Ab&Ag	Bioadvance	microplaque	90 mn	150

Sensibilité analytique des tests Ag/Ac vis-à-vis de l'AgVIH-1 en pg/ml (*évaluations externes*)

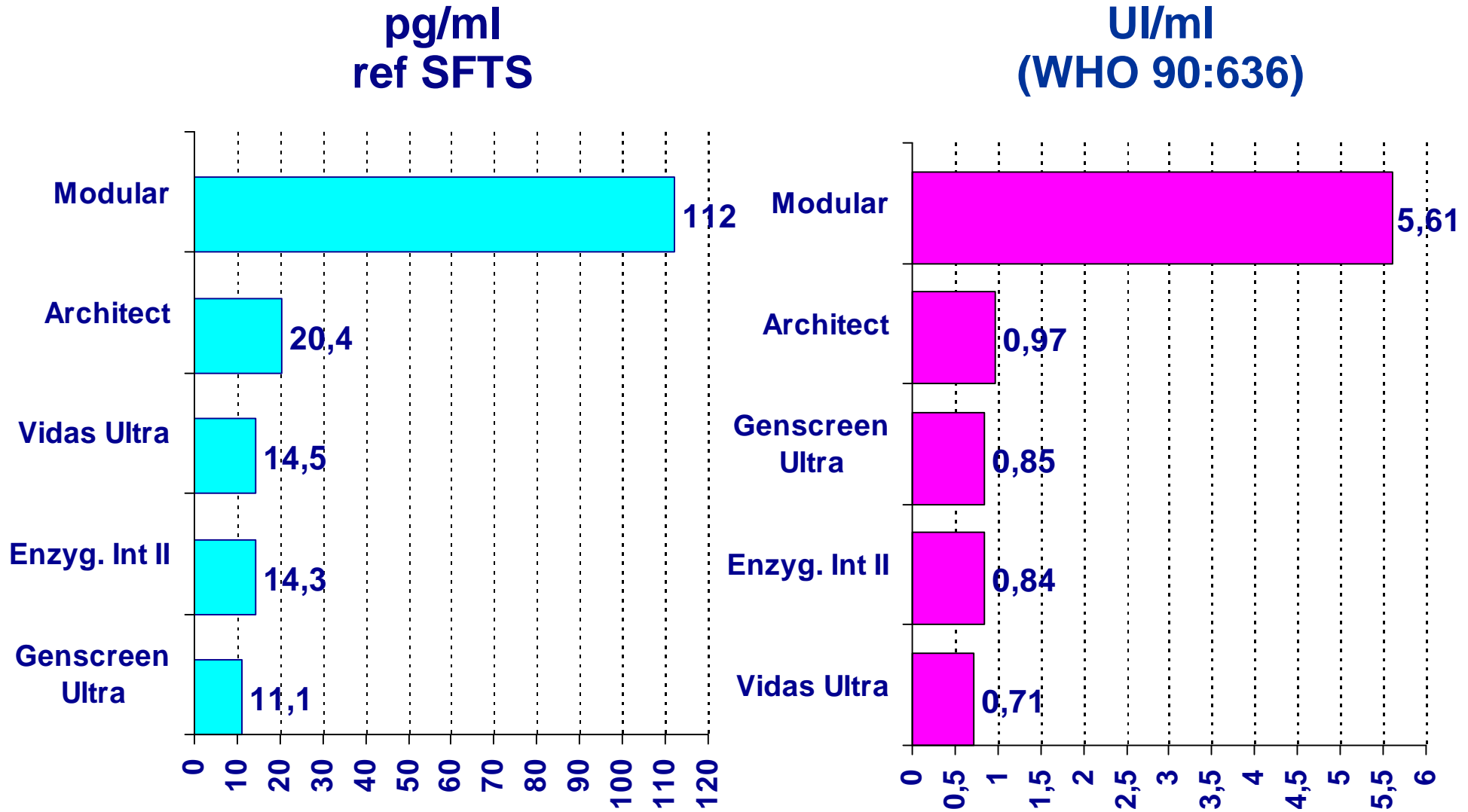


Automate

Microplaq

Souche de référence SFTS génotype B

Sensibilité analytique des tests Ag/Ac vis-à-vis de l'AgVIH-1 en pg/ml et en UI/ml (1) *(étude 2009)*

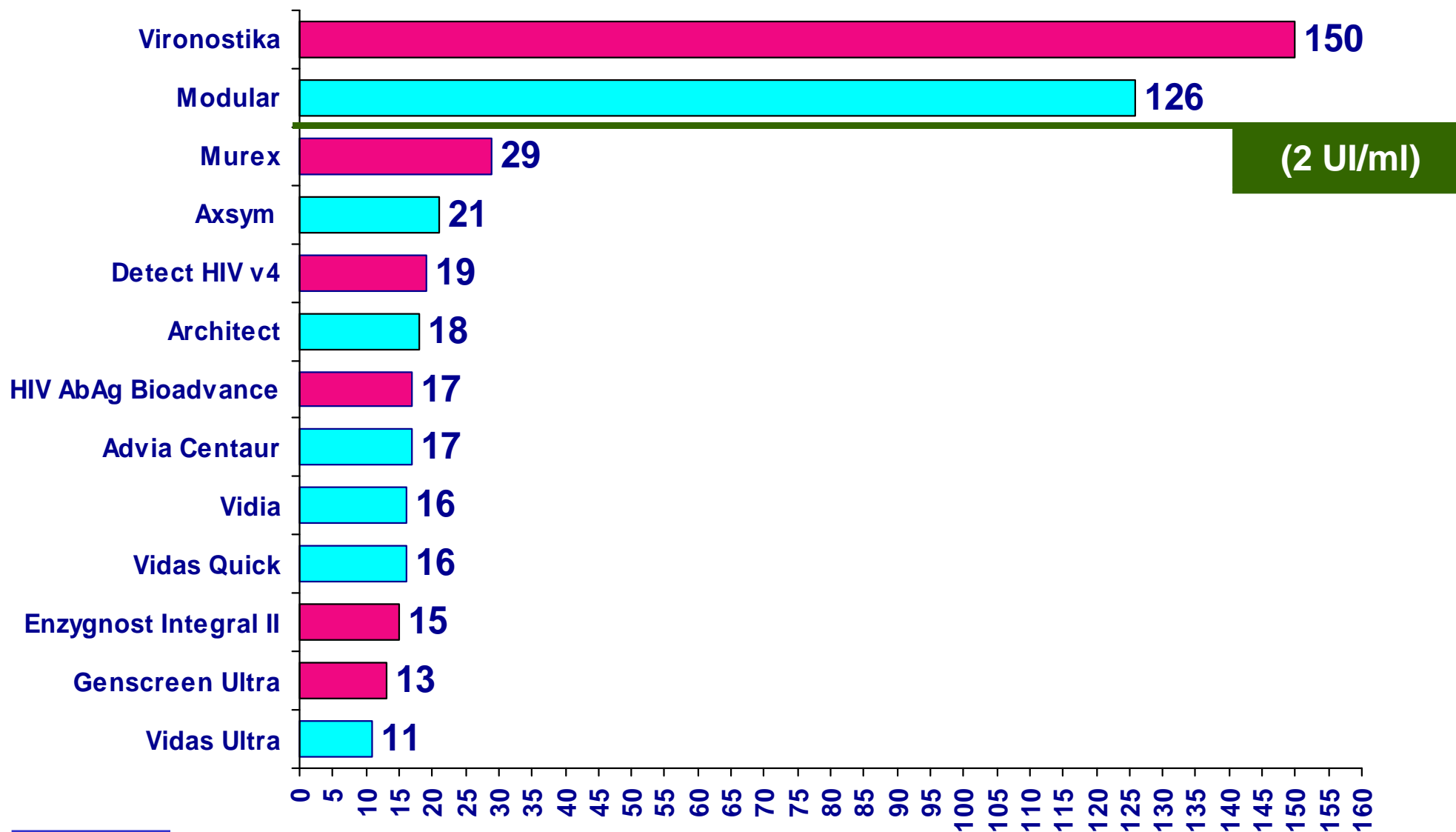


Sensibilité analytique des tets Ag/Ac vis-à-vis de l'AgVIH-1 en pg/ml et en UI/ml (2) *(étude 2009)*

Sensibilité analytique	Architect	Enzygnost Integral II	Genscreen Ultra	Modular HIV	Vidas Ultra
pg/ml	20.4	14.3	11.1	112	14.5
UI/ml	0.97	0.84	0.85	5.61	0.71
Rapport (pg/ml)/(UI/ml)	21	17	13	19.9	20.4

 Pas de relation directe stricte entre les 2 unités de mesure
 Mais 1UI équivaut à environ 20 pg/ml

Sensibilité analytique des tests Ag/Ac vis-à-vis de l'AgVIH-1 en pg/ml (*évaluations externes*)



Automate

Microplaq

Souche de référence SFTS génotype B

Lettre Afssaps du 22 juin 2010

Tests combinés de détection du VIH – sensibilité analytique de l'antigène P24 22/06/2010

L'arrêt du 28 mai 2010 décrit les conditions de réalisation du diagnostic biologique de l'infection à virus de l'immunodéficience humaine (VIH 1 et 2) et les conditions de réalisation du test rapide d'orientation diagnostique dans les situations d'urgence précise les conditions de dépistage du VIH dans les laboratoires d'analyse de biologie médicale.

L'article premier de cet arrêté fixe le seuil minimal en antigène p24 (Ag p24) du test combiné utilisé lors du dépistage à 2 unités internationales par millilitre (UI/ml) mesuré avec le standard international WHO 90/636. Ce seuil correspond à celui des Spécifications Techniques Communes opposables à la mise sur le marché européen (STC 2009/886/CE disponible sur le site de la commission européenne) .

La sensibilité analytique pour l'Ag p24 doit être précisée dans la notice des tests combinés.

En attente de la date d'application des STC (1er décembre 2010), certaines notices mentionnent ce seuil en picogramme par millilitre (pg/ml).

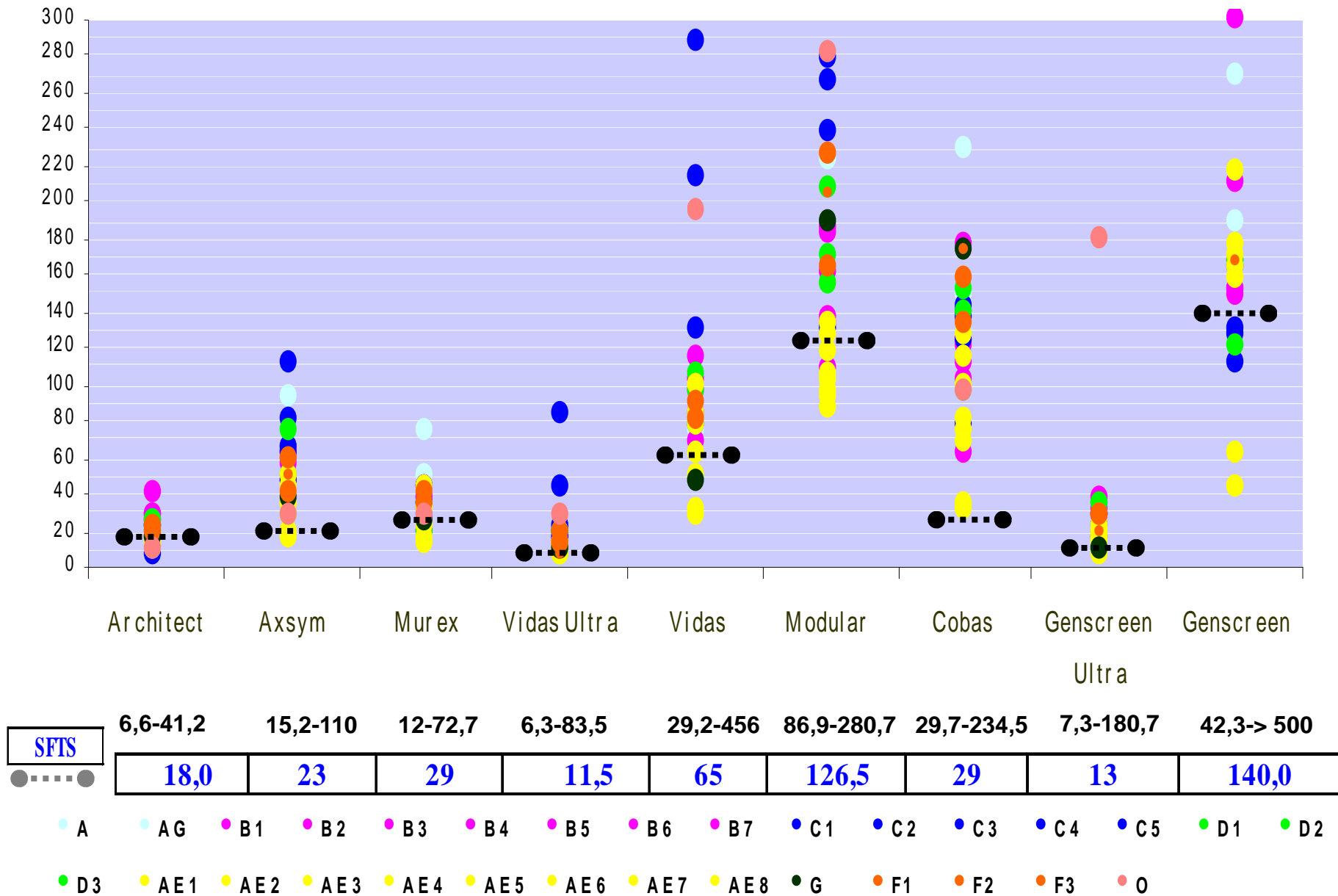
Il n'existe à l'heure actuelle pas de données publiées déterminant la corrélation entre ce standard international et le standard en picogramme par millilitre distribué par Bio-Rad.

Cependant des études réalisées par l'Afssaps et le Paul Ehrlich Institute ont montré une correspondance approximative de 1 UI pour 20 à 30 pg suivant les techniques.

L'Afssaps va se rapprocher des fabricants mettant des tests combinés sur le marché en France afin de les sensibiliser sur l'importance de fournir au plus vite aux utilisateurs français une sensibilité analytique de l'Ag p24 en unités internationales. L'Afssaps construira avec eux la liste des produits répondant aux critères de l'arrêt du 28 mai 2010. Cette liste sera publiée sur le site de l'Afssaps.

Limite de détection de l'Ag VIH

30 surnageants de culture (Abbott)



Cas n°1 : homme, 30 ans, syndrome grippal

- Dépistage VIH :

1 Test combiné Ag/Ac

Ech/seuil = 12 (pos si ≥ 1)

Quelle(s) est (sont) l'(les) première(s) étape(s) à adopter dans la démarche diagnostique?

1. Réaliser un test de confirmation
2. Réaliser une quantification de l'ARN viral
3. Réaliser une recherche de l'Agp24
4. Aucune de ces propositions

Cas n°1 : homme, 30 ans, syndrome grippal

- **Dépistage VIH :**

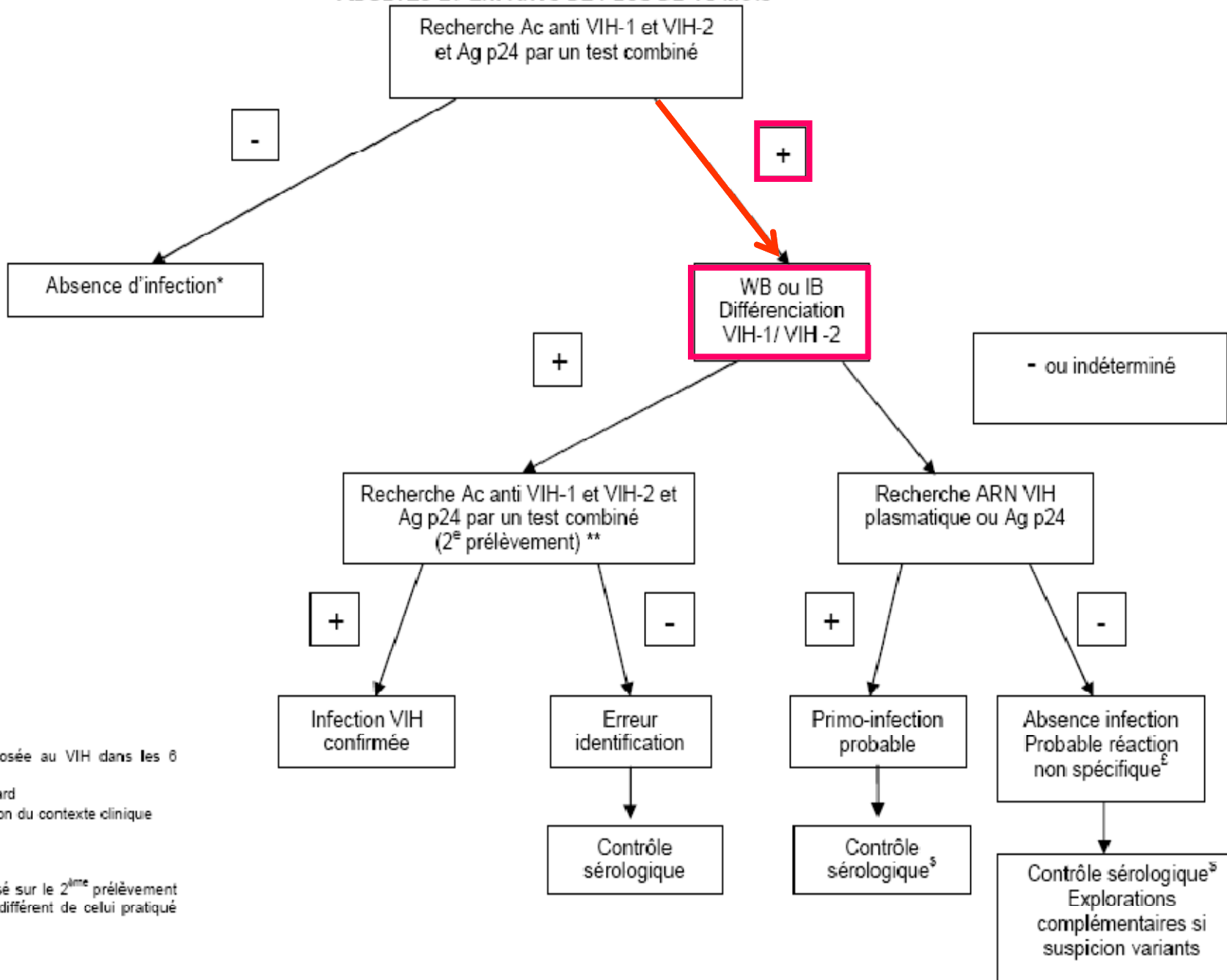
1 Test combiné Ag/Ac

Ech/seuil = 12 (pos si ≥ 1)

Quelle(s) est (sont) l'(les) première(s) étape(s) à adopter dans la démarche diagnostique?

- 1. Réaliser un test de confirmation**
2. Réaliser une quantification de l'ARN viral
3. Réaliser une recherche de l'Agp24
4. Aucune de ces propositions

**ALGORITHME DE DÉPISTAGE
CAS GÉNÉRAL
ADULTES ET ENFANTS DE PLUS DE 18 MOIS**



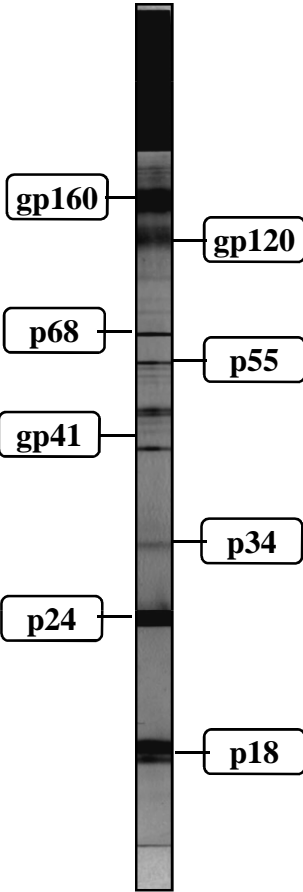
* sauf exposition supposée au VIH dans les 6 semaines précédentes
 § 1 à 2 semaines plus tard
 £ A interpréter en fonction du contexte clinique
 + : résultat positif
 - : résultat négatif
 Ac : anticorps
 ** le test combiné réalisé sur le 2^{ème} prélèvement peut être identique ou différent de celui pratiqué sur le 1^{er} prélèvement.

Cas n°1 : homme, 30 ans, syndrome grippal

WB HIV-1

Patient

Témoin pos



Cas n°1 : homme, 30 ans, syndrome grippal

Quelle est votre conclusion ?

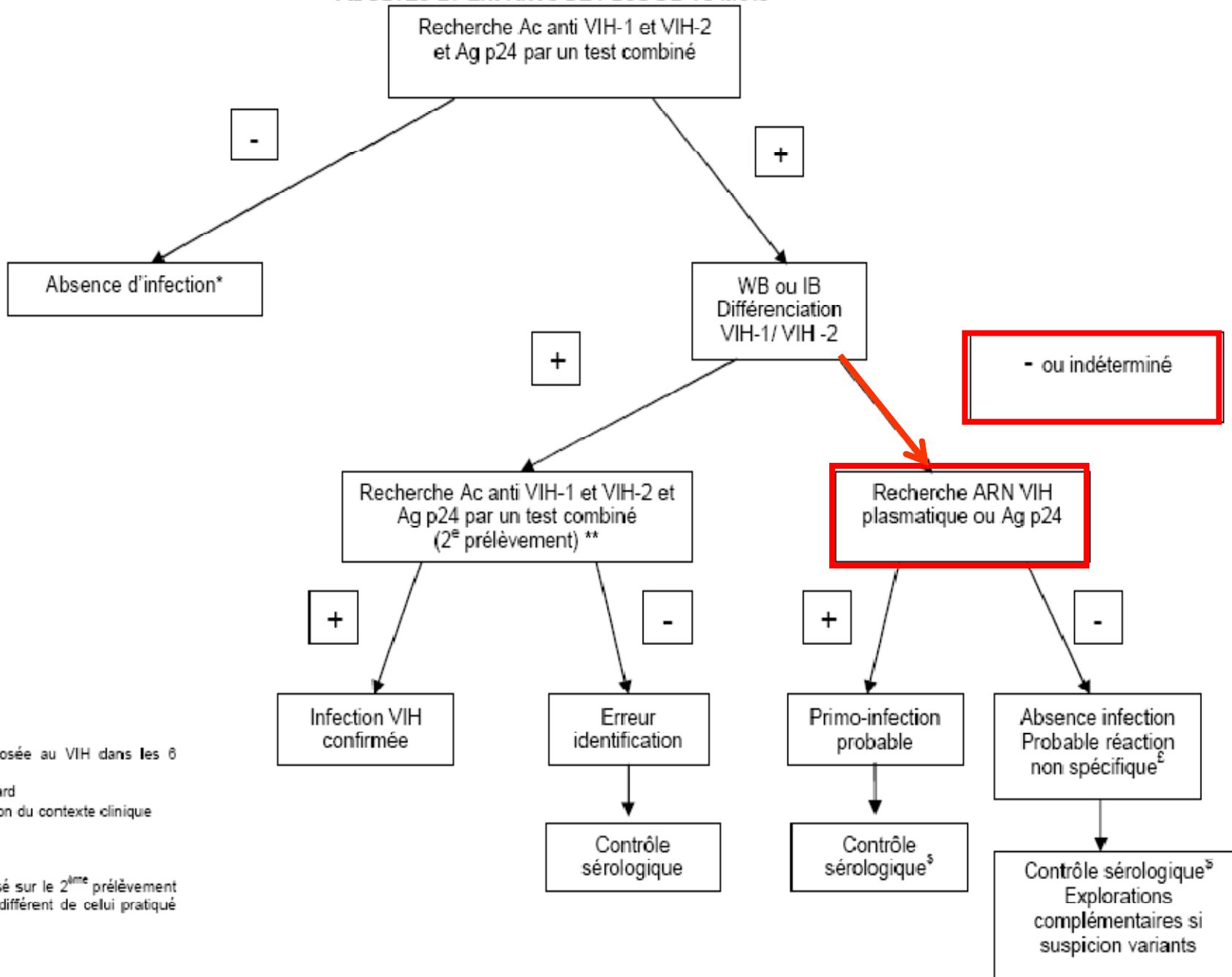
1. Absence d'infection
2. Résultat faussement positif avec le test ELISA
3. Infection à VIH-2
4. Infection à VIH-1 précoce
5. Je ne peux pas conclure

Cas n°1 : homme, 30 ans, syndrome grippal

Quelle est votre conclusion ?

1. Absence d'infection
2. Résultat faussement positif avec le test ELISA
3. Infection par le VIH-2
4. Infection à VIH-1 précoce
5. **Je ne peux pas conclure**

**ALGORITHME DE DÉPISTAGE
CAS GÉNÉRAL
ADULTES ET ENFANTS DE PLUS DE 18 MOIS**



* sauf exposition supposée au VIH dans les 6 semaines précédentes
 § 1 à 2 semaines plus tard
 £ A interpréter en fonction du contexte clinique
 + : résultat positif
 - : résultat négatif
 Ac : anticorps
 ** le test combiné réalisé sur le 2^{ème} prélèvement peut être identique ou différent de celui pratiqué sur le 1^{er} prélèvement.

Cas n°1 : homme, 30 ans, syndrome grippal

- Dépistage VIH :
 - 1 Test combiné Ag/Ac Ech/seuil = 12 (pos si ≥ 1)
- WB HIV: Négatif
- Recherche de l'ARN VIH : 5.6 log copies/ml

Quelle est votre conclusion ?

1. Absence d'infection
2. Infection à VIH-1 précoce
3. Résultat faussement positif avec le test ELISA
4. Infection par le VIH-2
5. Je ne peux pas conclure

Cas n°1 : homme, 30 ans, syndrome grippal

- Dépistage VIH :
1 Test combiné Ag/Ac Ech/seuil = 12 (pos si ≥ 1)
- WB HIV: Négatif
- Recherche de l'ARN VIH : 5.6 log copies/ml

Quelle est votre conclusion ?

1. Absence d'infection
2. **Infection à VIH-1 précoce**
3. Résultat faussement positif avec le test ELISA
4. Infection par le VIH-2
5. Je ne peux pas conclure

Cas n°1 : homme, 30 ans, syndrome grippal

- Dépistage VIH :
1 Test combiné Ag/Ac Ech/seuil = 12 (pos si ≥ 1)
- WB HIV: Négatif
- Recherche de l'ARN VIH : 5.6 log copies/ml

Que détecte dans ce cas le test combiné?

1. Les anticorps seulement
2. L'Agp24 seulement
3. L'ARN VIH-1 seulement
4. Les anticorps et l'Agp24
5. Les anticorps et/ou l'Agp24

Cas n°1 : homme, 30 ans, syndrome grippal

- Dépistage VIH :
1 Test combiné Ag/Ac Ech/seuil = 12 (pos si ≥ 1)
- WB HIV: Négatif
- Recherche de l'ARN VIH : 5.6 log copies/ml

Que détecte dans ce cas le test combiné?

1. Les anticorps seulement
2. L'Agp24 seulement
3. L'ARN VIH-1 seulement
4. Les anticorps et l'Agp24
5. **Les anticorps ou l'Agp24**

Cas n°2 : homme, 30 ans, syndrome grippal

■ Dépistage VIH :

1 Test Ac mixte

Ech/seuil = 0.4 (pos si ≥ 1)

1 Test Ag

Ech/seuil = 6.2 (pos si ≥ 1)

Test de neutralisation : pos

Quelle(s) est (sont) l'(les) étape(s) à adopter dans la démarche diagnostique?

1. Réaliser un test de confirmation
2. Réaliser une quantification d'ARN viral
3. Réaliser une recherche de l'Agp24
4. Aucune de ces propositions

Cas n°2 : homme, 30 ans, syndrome grippal

■ Dépistage VIH :

1 Test Ac mixte

Ech/seuil = 0.4 (pos si ≥ 1)

1 Test Ag

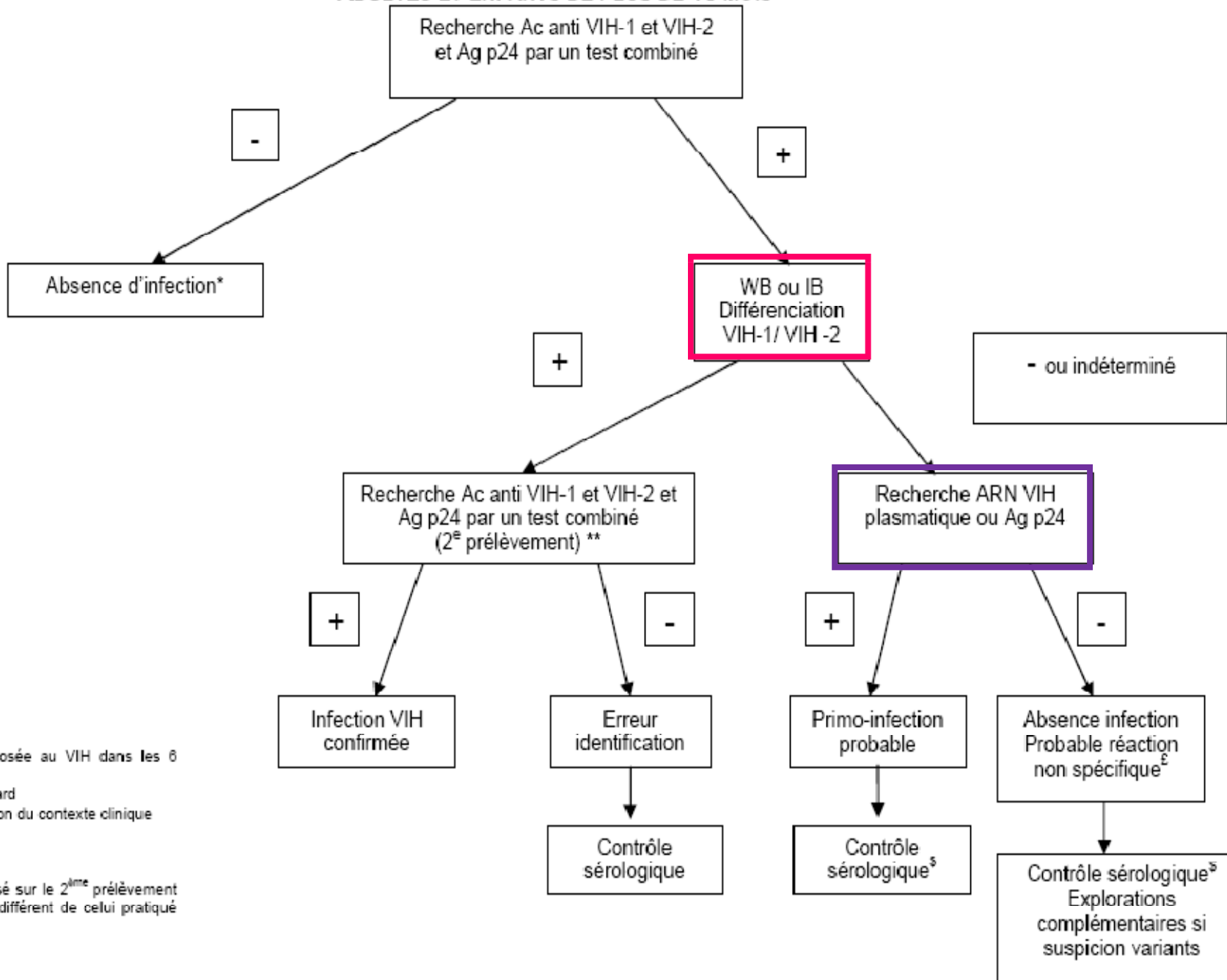
Ech/seuil = 6.2 (pos si ≥ 1)

Test de neutralisation : pos

Quelle est (sont) l'(les) étape(s) à adopter dans la démarche diagnostique?

1. Réaliser un test de confirmation
2. Réaliser une quantification d'ARN viral
3. Réaliser une recherche de l'Agp24
4. Aucune de ces propositions

**ALGORITHME DE DÉPISTAGE
CAS GÉNÉRAL
ADULTES ET ENFANTS DE PLUS DE 18 MOIS**



* sauf exposition supposée au VIH dans les 6 semaines précédentes
 § 1 à 2 semaines plus tard
 § A interpréter en fonction du contexte clinique
 + : résultat positif
 - : résultat négatif
 Ac : anticorps
 ** le test combiné réalisé sur le 2^{ème} prélèvement peut être identique ou différent de celui pratiqué sur le 1^{er} prélèvement.

Cas n°3 : femme, 32 ans, originaire d'Afrique, bilan grossesse

- Dépistage VIH :
1 Test combiné Ag/Ac Ech/seuil = 0.3 (pos si ≥ 1)
- Recherche ARN viral négative

Quelle est votre conclusion ?

1. Absence d'Ac anti-VIH-1
2. Absence d'ARN du VIH-1
3. Absence d'Ac anti-VIH-2
4. Absence d'Ag VIH-1
5. Aucune de ces propositions

Cas n°3 : femme, 32 ans, originaire d'Afrique, bilan grossesse

- Dépistage VIH :

1 Test combiné Ag/Ac

Ech/seuil = 0.3 (pos si ≥ 1)

- Recherche ARN viral

négative

Quelle est votre conclusion ?

1. **Absence d'Ac anti-VIH-1**
2. **Absence d'ARN du VIH-1**
3. **Absence d'Ac anti-VIH-2**
4. **Absence d'Ag VIH-1**
5. Aucune de ces propositions

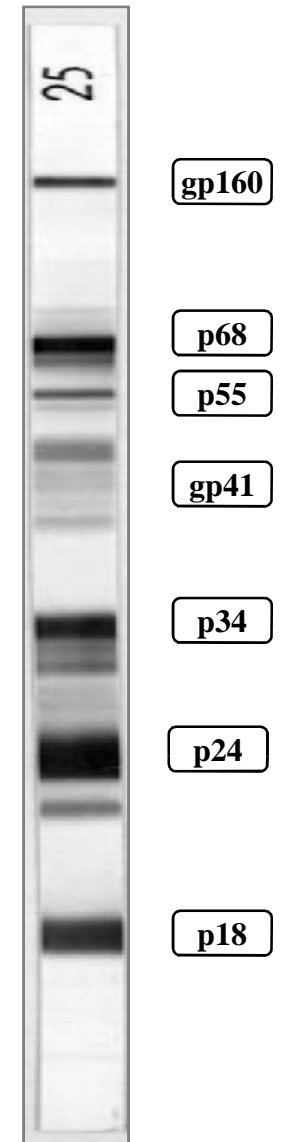
Cas n°3 : femme, 32 ans, originaire d'Afrique, bilan grossesse

Déclare avoir été informée d'une séropositivité
2 ans auparavant

Hypothèse(s) diagnostique(s)?
(on exclura l'erreur d'identification)

1. Infection à VIH-1 précoce
2. Infection traitée
3. Infection à VIH-2
4. Infection à VIH-1 gO
5. Aucune de ces propositions

WB HIV-1



Cas n°3 : femme, 32 ans, originaire d'Afrique, bilan grossesse

Déclare avoir été informée d'une séropositivité
2 ans auparavant

Hypothèse(s) diagnostique(s)?
(on exclura l'erreur d'identification)

1. Infection à VIH-1 précoce
2. Infection traitée
3. Infection à VIH-2
4. **Infection à VIH-1 gO**
5. Aucune de ces propositions

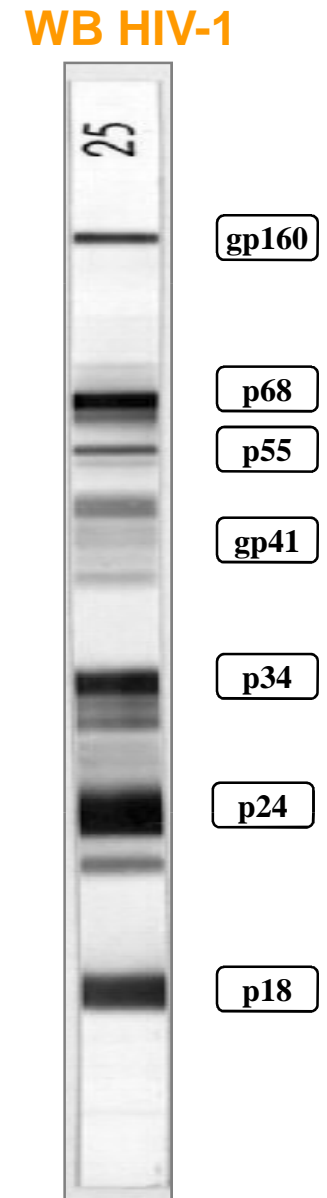


TABLE 1. Reactivities of sequential samples from the patient in different ELISAs

Yr of sample	Reactivity (sample:cutoff ratio) ^a												
	Second-generation assays			Third-generation assays					Fourth-generation assays				
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
1994	3.0	4.0	9.0				0.2			0.3		0.2	
1995				14.0							8.2		
1996		3.0	6.0				0.1		14.6			0.2	
2003					35.0	23.0	0.1	2.3				0.2	7.8
2004							0.1		9.6			0.1	

^a A, Wellcozyme HIV-1 recombinant (Murex); B, Murex HIV-1.2; C, AxSYM HIV-1/HIV-2 (Abbott); D, Ortho HIV-1/HIV-2 antibody capture ELISA (Ortho Diagnostics); E, anti-HIV TETRA ELISA (Biotest); F, Prism HIV O plus (Abbott); G, HIV1/2 Access (Bio-Rad); H, Genscreen HIV1/HIV2 V2 (Bio-Rad); I, Centaur HIV-1/O/2 (Bayer Diagnostics); J, Genscreen plus (BioRad); K, AxSYM combo (Abbott); L, Vidas HIV Duo (Biomerieux); M, Enzygmost HIV Integral (Behring).

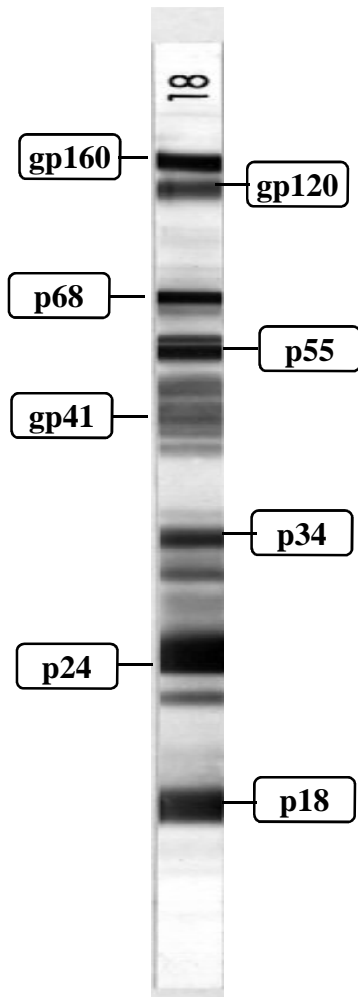
TABLE 2. Sequences of the immunodominant region (IDE) of gp41

Fragment	Sequence ^a
Group M consensus.....	RVLAVERYLKDQQLLGIWGC SGKLICTTAV
Group O consensus	RLLALETLIQNQQLLN LWGCKGRLVCYTSV
Case	RLLALETLLQNQQLLN LWGCKG <u>TR</u> ICYTSV

^a The unusual dipeptide motif is in bold and underlined.

Cas n°4 : homme, 37 ans, originaire d'Afrique, bonne santé, bilan systématique

WB HIV-1

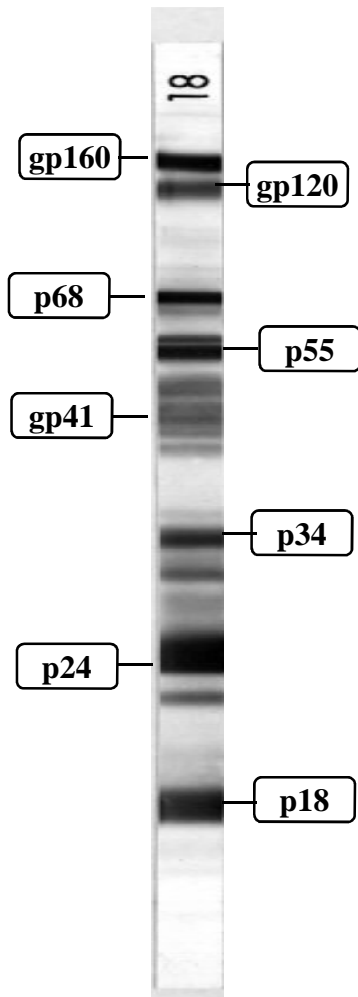


Comment interprétez vous ce profil ?

1. Absence d'infection
2. Profil nécessitant des investigations complémentaires
3. Infection à VIH-2
4. Infection à VIH-1
5. Aucune de ces propositions

Cas n°4 : homme, 37 ans, originaire d'Afrique, bonne santé, bilan systématique

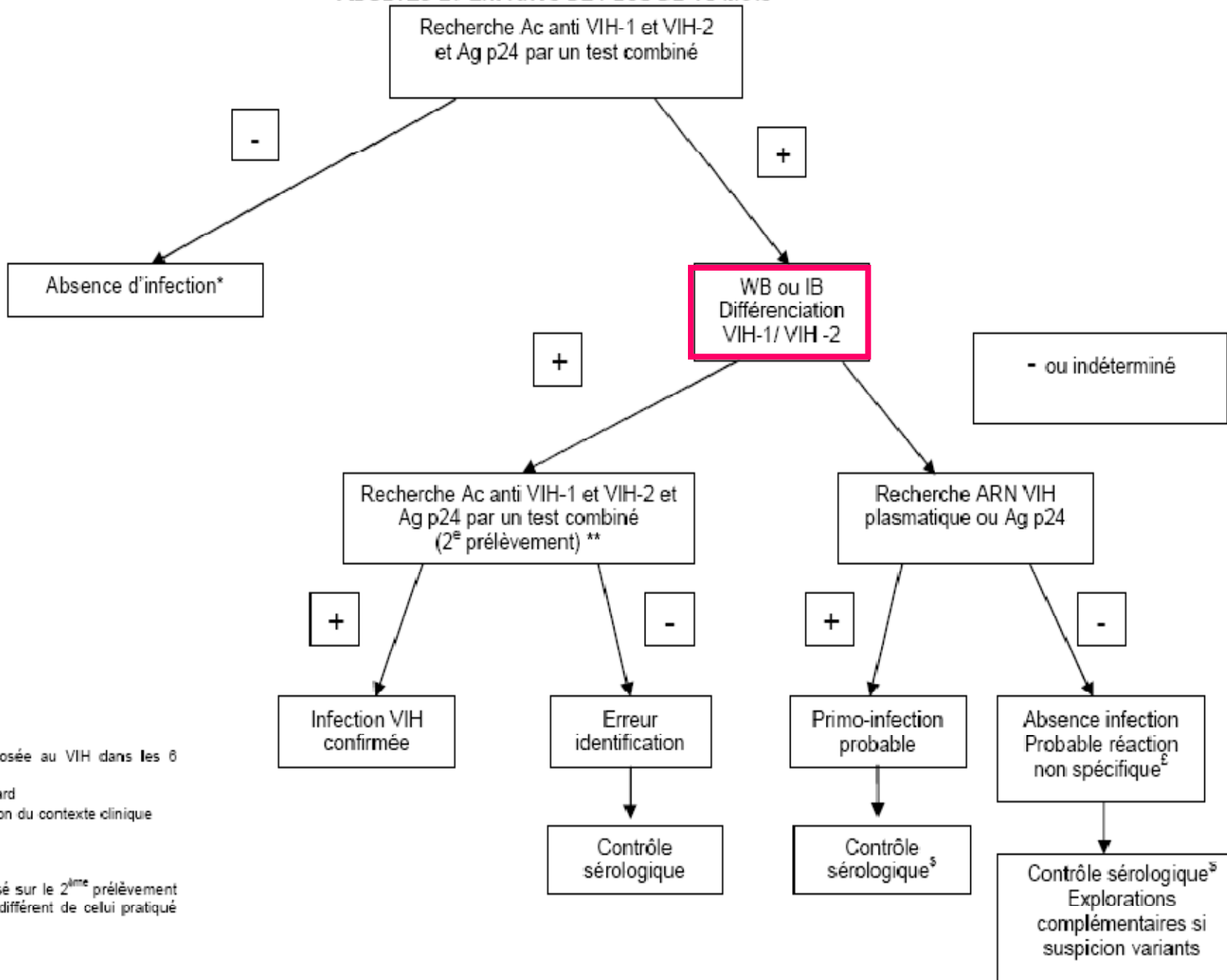
WB HIV-1



Comment interprétez vous ce profil ?

1. Absence d'infection
2. Profil nécessitant des investigations complémentaires
3. Infection à VIH-2
4. Infection à VIH-1
5. Aucune de ces propositions

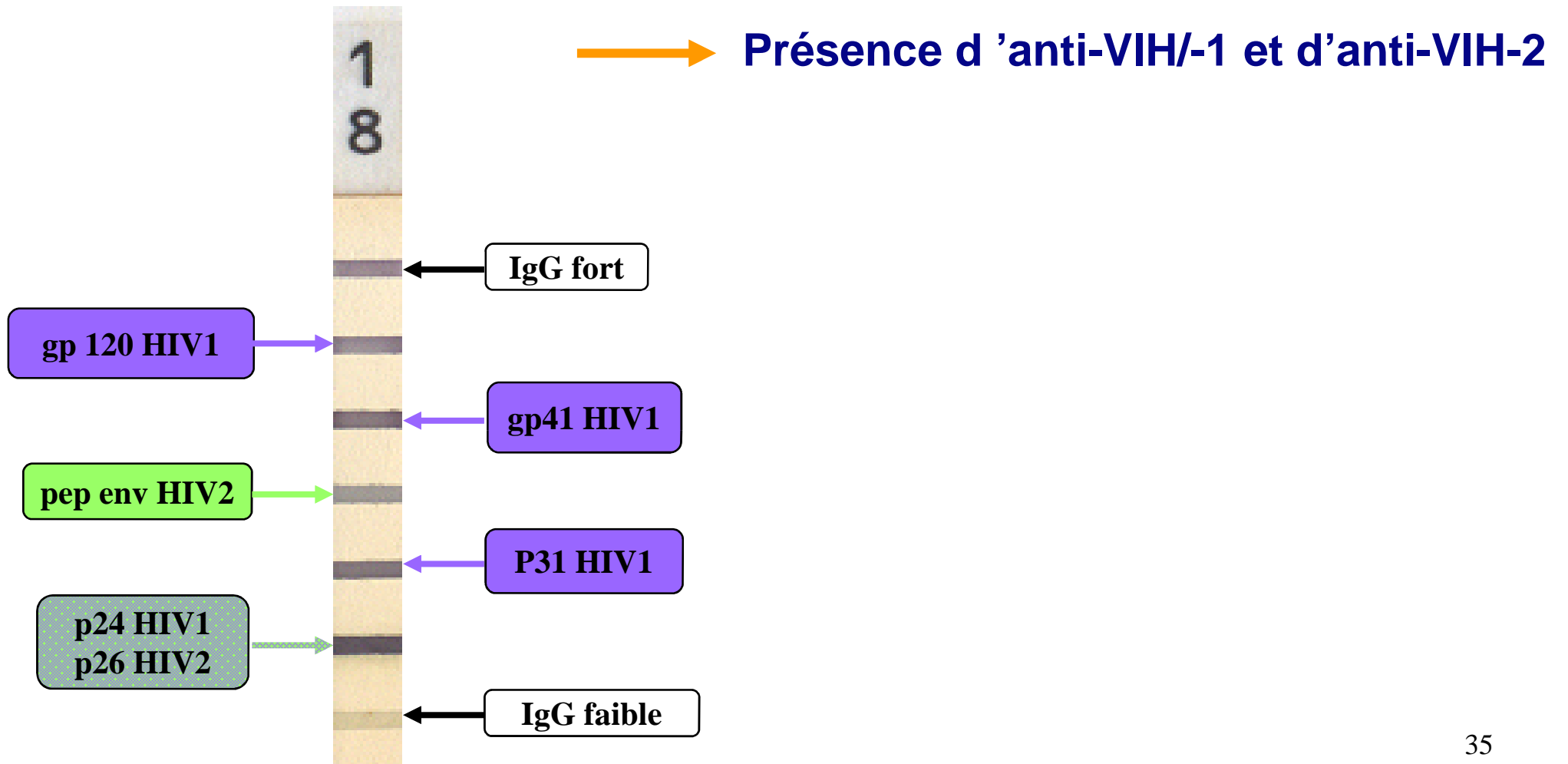
**ALGORITHME DE DÉPISTAGE
CAS GÉNÉRAL
ADULTES ET ENFANTS DE PLUS DE 18 MOIS**



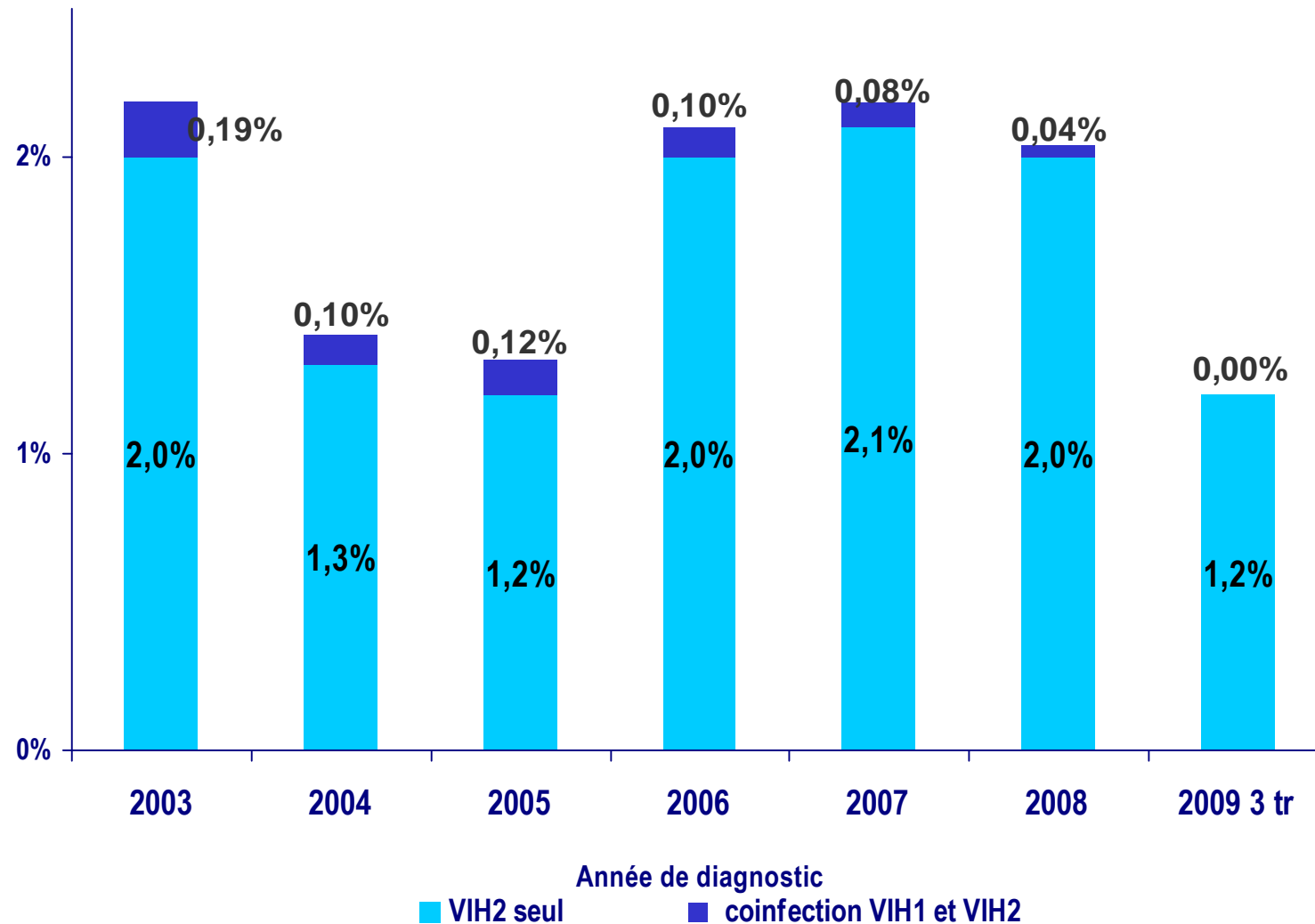
* sauf exposition supposée au VIH dans les 6 semaines précédentes
 § 1 à 2 semaines plus tard
 £ A interpréter en fonction du contexte clinique
 + : résultat positif
 - : résultat négatif
 Ac : anticorps
 ** le test combiné réalisé sur le 2^{ème} prélèvement peut être identique ou différent de celui pratiqué sur le 1^{er} prélèvement.

Cas n°4 : homme, 37 ans, originaire d'Afrique, bonne santé, bilan systématique

Immunoblot RIBA HIV



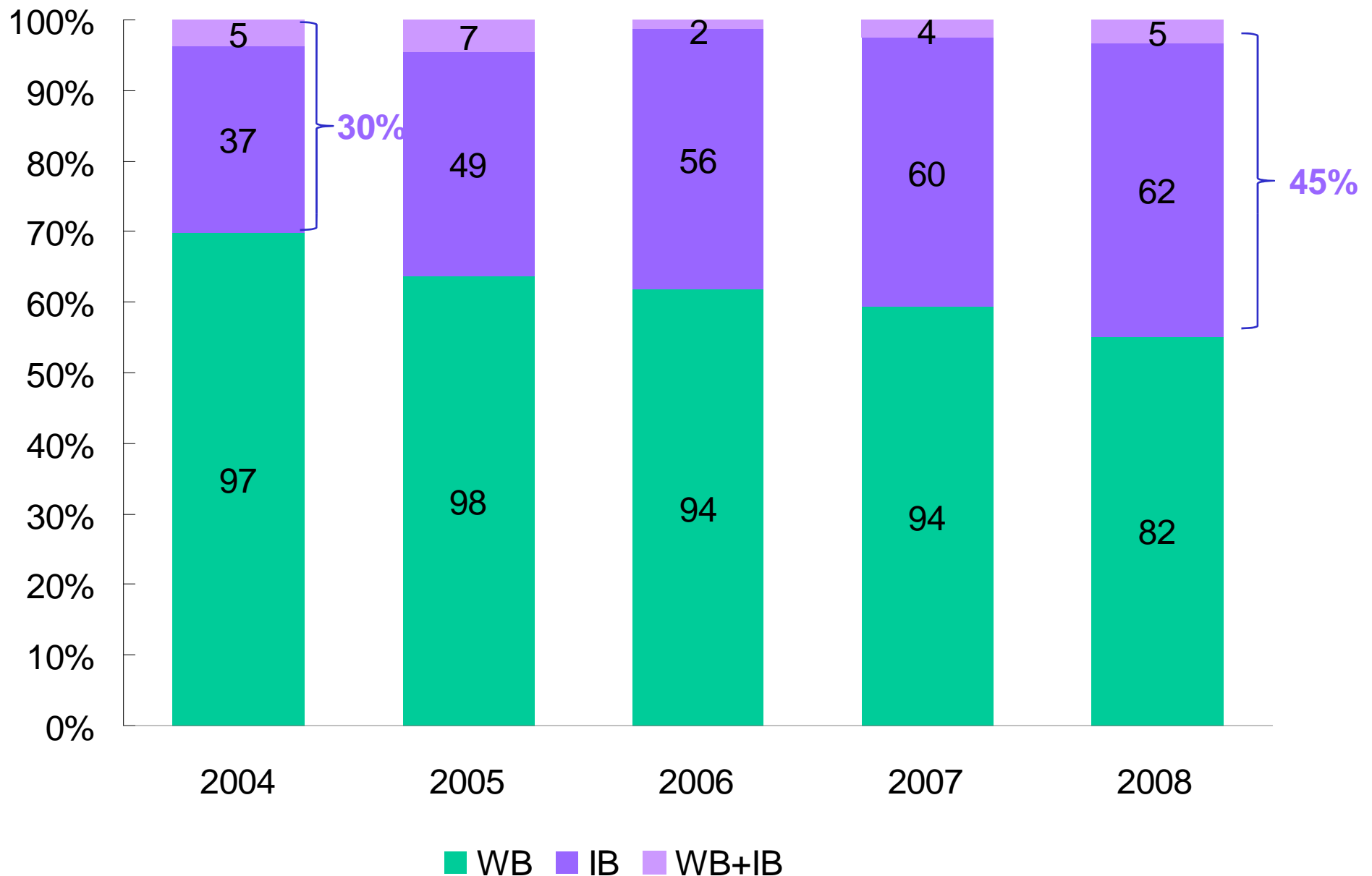
Proportion d'infections par le VIH-2 parmi les découvertes de séropositivité VIH en France, 2003 - sept. 2009



CNR du VIH et InVS, données du 30/09/2009 brutes (non corrigées pour la sous-déclaration ni pour les délais)

Evolution des techniques utilisées pour la confirmation VIH en France

CNQ WB Afssaps



Diagnostic biologique de l'infection à VIH

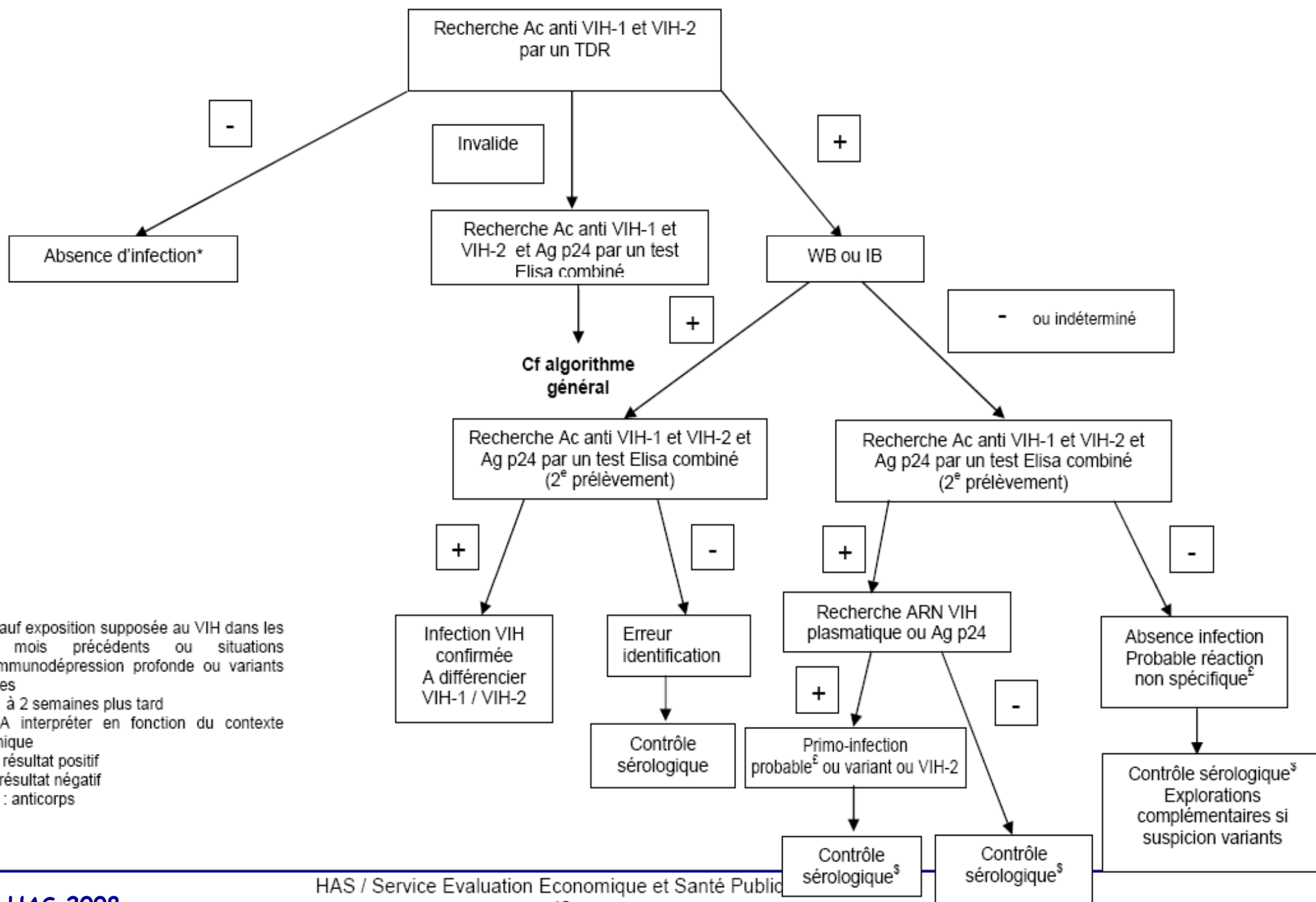
Arrêté du 28 mai 2010

Article 4

Les tests rapides sont quant à eux utilisables dans les situations d'urgence en vue d'une prise en charge médicale adaptée.

Tout test rapide d'orientation diagnostique est obligatoirement validé, que la recherche soit négative ou positive, par un diagnostic biologique de l'infection à VIH 1 et 2 sur un échantillon biologique distinct.

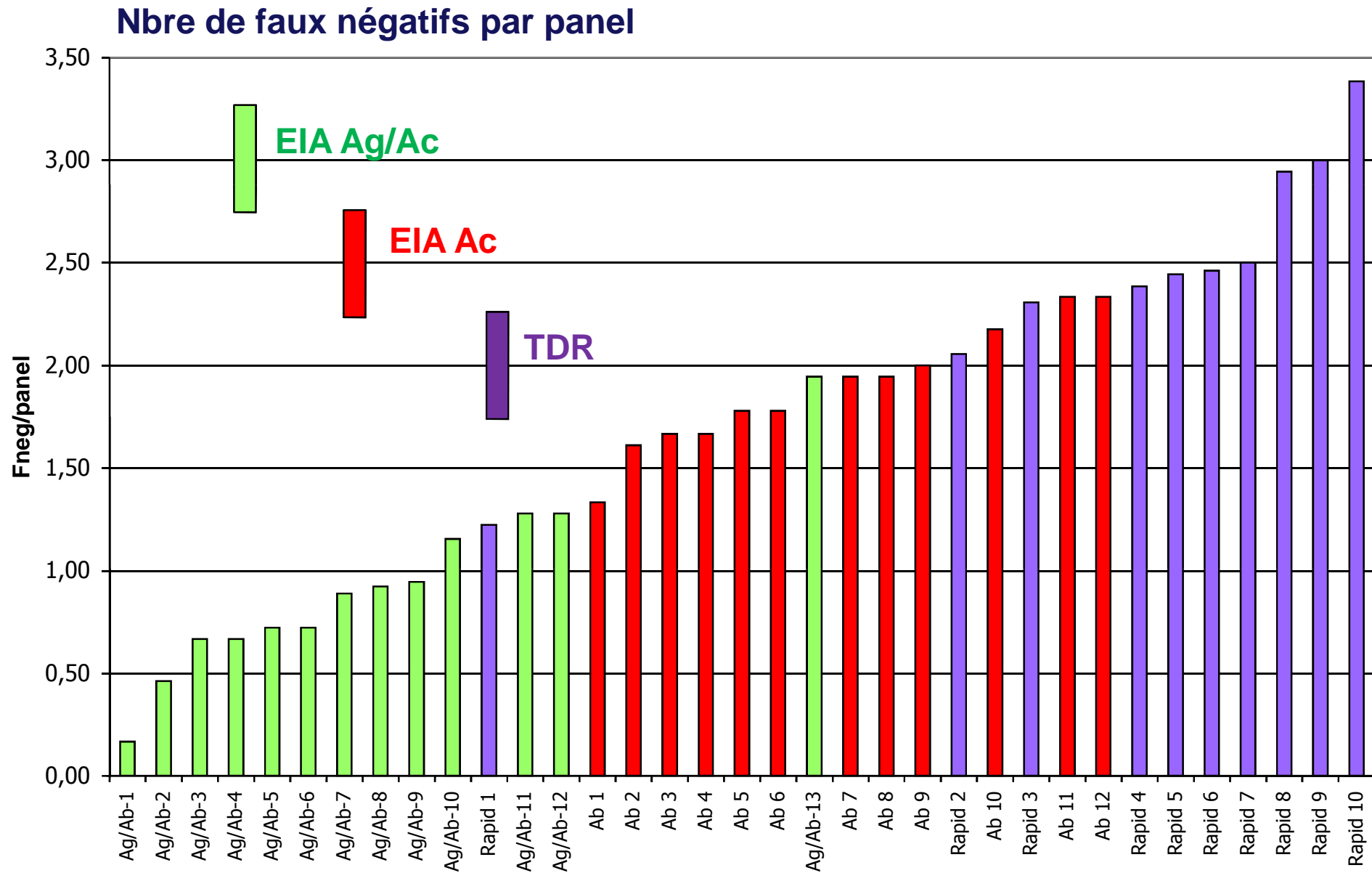
**ALGORITHME DE DÉPISTAGE
CAS DES TDR
ADULTES ET ENFANTS DE PLUS DE 18 MOIS**



* sauf exposition supposée au VIH dans les 3 mois précédents ou situations d'immunodépression profonde ou variants rares
 § 1 à 2 semaines plus tard
 £ A interpréter en fonction du contexte clinique
 + : résultat positif
 - : résultat négatif
 Ac : anticorps

EdA HIV des réactifs CE (Afssaps, PEI,INTS), 2010

35 réactifs- 15 panels de SC



Questions/ Réponses

- **Quel est le niveau de sensibilité analytique des tests de combinés disponibles en France?**
Majoritairement conforme aux exigences
- **Le seuil de sensibilité imposé à 2 UI/ml est-il respecté quelque soit le génotype rencontré ?**
Non évalué avec précision
- **Quelle stratégie de confirmation adopter dans la période transitoire en cas d'utilisation séparée d'un test anticorps (voire combiné) et d'un test Ag p24 ?**
En fonction des tests utilisés et des résultats obtenus
- **Comment assurer une différenciation optimale entre une infection par le VIH-1 et une infection par le VIH-2 ?**
IB ou WB VIH-1 avec pep VIH-2
- **Que devient la place du TDR dans le dépistage de l'infection ?**
Limitée aux situations d'urgence
- **Quid de la nomenclature (2 tests 5 nov 2003, B60 5 déc 2008) ?**
En cours de modification