

Concept suisse de test VIH – récapitulatif actualisé du concept technique et du concept de laboratoire

En 1985, l'Office fédéral de la santé publique (OFSP) a introduit un concept de test VIH, élaboré en collaboration avec la Commission fédérale pour les problèmes liés au sida (CFS) et visant à garantir partout en Suisse une fiabilité optimale du diagnostic de l'infection au VIH, un tel diagnostic étant lourd de conséquences. Ce concept comprend deux volets: le concept technique et le concept de laboratoire. Le concept technique définit les méthodes permettant d'obtenir les meilleures réponses aux questions diagnostiques. Le concept de laboratoire, quant à lui, fixe quels laboratoires vont se charger des différentes questions diagnostiques et des tâches spécifiques dans le domaine de la santé publique (système de déclaration obligatoire). Il comporte trois niveaux: les laboratoires de dépistage, les laboratoires de confirmation et, comme laboratoire de référence, le Centre national pour les rétrovirus (CNR). Selon l'ordonnance du 26 juin 1996 sur les laboratoires de microbiologie et de sérologie, les laboratoires pratiquant le diagnostic du VIH sont tenus d'appliquer le concept du test VIH de l'OFSP (cf. annexe 1 de l'ordonnance).

Dès 1985, l'OFSP a chargé une commission d'experts d'élaborer les directives et les recommandations de l'OFSP visant à maintenir un diagnostic VIH de haute qualité et à l'améliorer constamment en fonction des progrès de la recherche et de l'évolution technologique. Cette commission s'appelle aujourd'hui la *Commission laboratoire et diagnostique du VIH/sida de l'OFSP (CLD)*. Elle est composée des chefs des laboratoires de confirmation et du CNR, ainsi que d'une représentation adéquate de l'OFSP. Ses recommandations peuvent porter autant sur le concept technique que sur le concept de laboratoire.

Durant ces vingt dernières années, la CLD a rempli sa mission et a veillé à adapter régulièrement le concept de test VIH aux progrès considérables de la technologie. Toutes ses recommandations ont été publiées dans le bulletin de l'OFSP. De par leur nature, ces différentes publications ont mis en exergue les nouveautés, mais ne mentionnaient que brièvement les

éléments inchangés, ce qui était satisfaisant pour un lectorat restreint, déjà bien averti des développements du concept. Etant donné que les laboratoires et les autorités sanitaires comptent aujourd'hui un grand nombre de nouveaux collaborateurs qui n'ont pas suivi l'évolution du concept depuis le début, il paraît pertinent et même nécessaire de publier ce récapitulatif actualisé sur le diagnostic VIH et ses structures organisationnelles en Suisse.

CONCEPT TECHNIQUE - LES TROIS QUESTIONS DU DIAGNOSTIC VIH

Il y a 20 ans, le test de laboratoire ne visait qu'à déterminer si une personne était séropositive (question 1); aujourd'hui, la problématique à laquelle les laboratoires VIH sont confrontés s'est complexifiée et comprend deux questions essentielles supplémentaires. En effet, dès qu'une infection au VIH est dia-

gnostiquée de façon certaine, il faut aussitôt se poser les deux questions suivantes: quelle est l'identité du virus, définie par ses propriétés génétiques et biologiques (question 2) et quelle est l'activité de l'infection, déterminée par la charge virale (viral load; question 3). Il est indispensable de connaître l'identité du virus (VIH-1, VIH-2, souches du VIH-1 du groupe O) pour choisir le test de détermination de la charge virale le plus adapté et pour entamer, si nécessaire, le traitement antirétroviral (ART) le plus efficace possible. En effet, les médicaments appartenant au groupe des inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse (NNRTIs) sont généralement inefficaces contre les virus du groupe O et le VIH-2. Pour choisir le traitement le plus adéquat, il faut en outre détecter précisément les résistances éventuelles du virus propre au patient vis-à-vis des médicaments antirétroviraux. Il est enfin nécessaire de mesurer correctement la charge virale et le nombre de lymphocytes T CD4+ pour la prescription médicale d'un ART et pour le suivi de ce traitement. Le tableau 1 donne un aperçu du concept technique actuel, c.-à-d. des tests utilisés aujourd'hui, pour répondre aux trois questions. Cette sélection de tests permet à chaque laboratoire de déterminer le test ou la combinaison de tests les plus appropriés pour un mandat précis. Les directives à ce sujet se trouvent dans les tableaux 2 à 6 et les textes des encadrés y relatifs.

Aujourd'hui, outre la question diagnostique primaire, le diagnostic du VIH englobe également les propriétés qualitatives et quantitatives du virus. Il est évident que les examens supplémentaires qui en découlent, portant sur toute une série de paramètres viraux, améliorent nettement la fiabilité du diagnostic du VIH en augmentant la spécificité diagnostique. La sûreté du diagnostic initial de «séropositive confirmée» se voit considérablement renforcée par un résultat positif du dosage de la charge virale ou par l'identification du sous-type dans le cadre d'un test de résistance. Au contraire, si l'on a diagnostiqué récemment une séropositive chez un patient mais que la charge virale est indétectable, il faut se deman-

Tableau 1

Concept technique actuel. Les trois questions principales du diagnostic VIH et les tests effectués pour y répondre

Question 1: Est-ce que le patient est infecté par le VIH ?

Niveau dépistage	Niveau confirmation (laboratoires de confirmation et/ou CNR)	
Tests effectués sur le premier échantillon (sérum ou plasma)	Tests qui peuvent être effectués sur le premier échantillon	Tests qui peuvent être effectués sur le deuxième échantillon (sang EDTA) ou des échantillons ultérieurs
<ul style="list-style-type: none"> dans les laboratoires: test de dépistage de 4^e génération (test combiné VIH-1/2; détecte les anticorps et l'Ag p24 dans les cabinets médicaux: «test rapide» (ne détecte que les anticorps – inapproprié en cas de suspicion de primo-infection) 	<ul style="list-style-type: none"> deuxième test de dépistage (de 3^e ou 4^e génération) différent du premier «test rapide» Line Immunoassay HIV-1/2 (Western Blot) antigène p24 + neutralisation 	<ul style="list-style-type: none"> deuxième test de dépistage (de 3^e ou 4^e génération) différent du premier «test rapide» Line Immunoassay HIV-1/2 (Western Blot) Ag p24 + neutralisation ARN VIH-1 quantitatif (charge virale) ARN VIH-1 (qualitatif) ADN VIH-1 (qualitatif) ADN VIH-2 (qualitatif) test PERT MEGA-PCR sur l'ADN du VIH-1 culture et identification du virus

Question 2: Quelles sont les propriétés du virus?

S'agit-il du VIH-1, du VIH-2 ou du VIH-1 du groupe O?	Est-ce que ce virus est résistant aux médicaments antirétroviraux?
<ul style="list-style-type: none"> Line Immunoassay, (Western Blot) PCR sur l'ADN du VIH-1 ou du VIH-2 PCR avec amorces et sondes spécifiques du VIH-1 du groupe O et séquençage 	<ul style="list-style-type: none"> test de résistance génotypique test de résistance phénotypique

Question 3: Quelle est la charge virale?

Premier test effectué	Autres tests possibles
<ul style="list-style-type: none"> ARN du VIH-1 quantitatif → concentration des particules du virus VIH-1 dans le plasma (inapproprié pour le VIH-2 et pour les souches de VIH-1 du groupe O) 	<ul style="list-style-type: none"> activité de la transcriptase inverse (RT) avec le test PERT (indépendant de la séquence de l'ARN viral) → concentration de toutes les particules de rétrovirus dans le plasma

der non seulement s'il s'agit d'une variante de virus aberrante, mais aussi se reposer la question fondamentale de savoir si les critères pour un diagnostic d'infection sont vraiment remplis.

Il découle également de ces réflexions que le médecin traitant doit donner au laboratoire clinique les renseignements les plus précis possible sur la motivation de l'examen VIH demandé. En effet, il est indispensable de connaître l'anamnèse et la question clinique pour choisir correctement les tests à effectuer. Le laboratoire de dépistage doit impérativement transmettre ces informations au laboratoire de confirmation. La CLD a établi expressément qu'il n'est pas du ressort du laboratoire de dépistage de prescrire au laboratoire de confirmation le type de test que ce dernier doit ou peut effectuer. Le laboratoire de dépis-

tage ne fait que délivrer un mandat de confirmation. C'est au laboratoire de confirmation qu'il revient de déterminer quel est (ou quels sont) le(s) test(s) nécessaire(s) pour remplir au mieux son mandat.

Question 1: Est-ce que le patient est infecté par le VIH?

Cette question centrale concerne le concept de laboratoire VIH à tous les échelons, à savoir les laboratoires cliniques sur le plan du dépistage du VIH (également certains laboratoires de cabinets médicaux qui effectuent les «tests rapides» du VIH), les laboratoires de confirmation du VIH et le Centre national pour les rétrovirus (CNR).

En ce qui concerne les algorithmes de test à mettre en pratique, il faut veiller à utiliser des méthodes différentes selon qu'il s'agit du diagnostic pédiatrique du VIH chez les nou-

veaux-nés et les nourrissons jusqu'à 24 mois ou du diagnostic chez des adultes ou des enfants de plus de deux ans.

Diagnostic chez les adultes et les enfants de plus de 24 mois

Parmi les méthodes à appliquer pour répondre à cette question primordiale, il faut distinguer les tests directs et les tests indirects. Les tests indirects mettent à profit la réponse immune de la personne infectée, en particulier la production d'anticorps spécifiques au VIH. Les tests directs, quant à eux, mettent en évidence certains composants du virus – p. ex. des protéines virales comme l'antigène p24 (Ag p24), l'ADN ou l'ARN du VIH – ou l'activité de certaines enzymes rétrovirales comme la transcriptase inverse (reverse transcriptase) contenue dans les particules virales.

Au stade précoce de l'infection au VIH (primo-infection, PHI), on observe généralement une répllication massive du virus. En l'espace de quelques jours, des titres de virus très élevés peuvent être mis en évidence dans le sang à l'aide de la réaction de polymérisation en chaîne quantitative (*Reverse Transcription* ou RT-PCR) ou d'autres techniques d'amplification de séquences spécifiques d'acides nucléiques, titres qui diminuent en règle générale après quelques semaines. Durant cette période, le test de l'Ag p24 est également positif. Peu de temps après, on observe l'apparition des premiers anticorps avec un test de dépistage des anticorps.

Le risque de transmission à ce stade précoce de l'infection est très grand, en raison de la virémie élevée et de l'absence d'anticorps neutralisants ou d'autres éléments de la défense immunologique chez le sujet. Il faut donc détecter sans faute la présence du VIH à ce stade-là. Actuellement, la meilleure manière d'y parvenir est de recourir aux tests combinés antigène/anticorps de 4^e génération, qui mettent en évidence aussi bien l'antigène p24 que les anticorps. C'est pourquoi la CLD recommande, depuis le 1^{er} mars 2004, d'utiliser un test combiné antigène/anticorps de 4^e génération pour le dépistage partout où les moyens techniques adéquats sont à disposition, c'est-à-dire dans les laboratoires diagnostiques (cf. encadré «Recommandations de la CLD pour le dépistage VIH dans les laboratoires cliniques et les cabinets médicaux»). Comme le dépistage réalisé à l'aide d'un «test rapide» VIH-1/2 au cabinet médical ne peut détecter l'antigène p24, les prélèvements du patient doivent être envoyés impérativement à un laboratoire capable d'effectuer un test mettant en évidence l'Ag p24 (le plus simple étant le test combiné) en cas de suspicion anamnétique ou clinique de primo-infection au VIH.

Les laboratoires de confirmation disposent aujourd'hui de toute une gamme de tests (tableau 1), en plus du Western Blot (WB), utilisé depuis 20 ans. Selon le laboratoire et le type d'échantillon, un test déterminé ou la combinaison de certains tests peuvent s'avérer plus judi-

RECOMMANDATIONS DE LA CLD POUR LE DÉPISTAGE VIH DANS LES LABORATOIRES CLINIQUES ET LES CABINETS MÉDICAUX

Dépistage dans les laboratoires cliniques:

Comme les tests combinés antigène/anticorps permettent une détection plus efficace de l'infection au VIH en phase précoce que les tests de 3^e génération, qui ne mettent en évidence que les anticorps, la CLD recommande aux laboratoires cliniques d'utiliser d'une manière généralisée un test de 4^e génération pour le dépistage. En cas de suspicion anamnétique ou clinique de primo-infection, un résultat négatif peut être dû au fait que le test a été effectué trop tôt. Dans un tel cas, un contrôle doit être envisagé une à deux semaines plus tard (avec à nouveau un test combiné). Pour exclure définitivement une infection au VIH suite à une exposition au virus, il est nécessaire de refaire un test après trois mois. L'interprétation des résultats et la procédure dans les laboratoires cliniques sont présentées dans le tableau 2.

Dépistage en cabinet médical:

Dans les cabinets médicaux où les tests de 4^e génération ne peuvent être effectués pour des raisons pratiques, il est possible de continuer à utiliser un «test rapide» pour le VIH dans le but d'exclure une infection au VIH acquise depuis un certain temps (plus de trois mois après l'exposition potentielle). Toutefois, en cas de suspicion de primo-infection, le sang doit être envoyé impérativement à un laboratoire qui utilise en routine un test combiné (Ac + Ag p24) de 4^e génération (vérifier avant l'envoi!). La procédure et l'interprétation du résultat sont présentées dans le tableau 3.

En cas de résultat réactif d'un test de dépistage du VIH dans un laboratoire clinique ou un cabinet médical, un nouveau prélèvement de sang sur EDTA doit être envoyé à un laboratoire de confirmation. L'avantage d'un 2^e prélèvement frais sur EDTA est que le laboratoire de confirmation pourra procéder non seulement aux tests de confirmation sérologiques mais aussi à une quantification de l'ARN du VIH-1 (détermination de la charge virale). Cette procédure accroît considérablement la sûreté du diagnostic et permet de surcroît d'établir le bilan virologique par ailleurs indispensable chez le patient positif au VIH.

cieux qu'un autre test ou une autre combinaison de tests. Par conséquent, la CLD a décidé en 1998 de renoncer à la réglementation de la procédure de confirmation, qui était très rigide auparavant et exigeait de manière contraignante la réalisation d'un test WB. A la place, on a défini certaines combinaisons de résultats positifs de tests dans le premier et le deuxième échantillon prélevés, qui doivent se réaliser pour que le diagnostic d'infection soit considéré comme assuré (cf. encadré «Recommandations de la CLD pour le dépistage et la confirmation dans les laboratoires de confirmation»). Voici deux exemples, parmi d'autres, de combinaisons minimales confirmant une infection au VIH: (1) un test combiné réactif sur le premier échantillon et un test LIA (Line Immunoassay) positif sur le deuxième échantillon; (2) un test

combiné réactif et un deuxième test de dépistage réactif sur le premier échantillon ainsi qu'une charge virale suffisamment élevée (>1000 copies d'ARN viral/ml) dans le deuxième échantillon. Il revient au laboratoire de confirmation de décider de la combinaison la plus appropriée pour un cas donné; c'est aussi lui qui endosse la responsabilité de ce choix.

Un des principes essentiels pour la fiabilité d'un diagnostic d'infection est la nécessité que les résultats des analyses d'au moins deux prélèvements (premier et deuxième échantillons) soient toujours concordants. En outre, en cas de résultat réactif du test combiné et d'un résultat négatif ou indéterminé d'un test de mise en évidence des anticorps destiné à confirmer le diagnostic (test de dépistage de 3^e génération, LIA ou WB), il est impor-

Tableau 2
Dépistage en laboratoire clinique

TEST ET RÉSULTAT	INTERPRÉTATION	MARCHE A SUIVRE
Test combiné VIH-1/2 certifié CE (Ac + Ag p24) de 4 ^e génération		
négatif	pas d'indice d'une infection au VIH	Répéter le test 1 à 2 semaines plus tard en cas de suspicion de primo-infection
limite	incertain	Si toujours limite après répétition, faire parvenir du sang sur EDTA directement à un laboratoire de confirmation dans les 1 à 2 semaines qui suivent. Résultat au demandeur selon la conclusion du laboratoire de confirmation
réactif	pas de résultat définitif	Envoyer le matériel pour confirmation à un laboratoire de confirmation ou faire envoyer un nouveau prélèvement de sang sur EDTA directement à un laboratoire de confirmation. Résultat au demandeur selon la conclusion du laboratoire de confirmation

Tableau 3
Dépistage en cabinet médical

TEST ET RÉSULTAT	INTERPRÉTATION	MARCHE A SUIVRE
«Test rapide» certifié CE		
négatif	pas d'indice d'une infection au VIH	envoyer à un laboratoire de confirmation en cas de suspicion de primo-infection
limite	incertain	envoyer du sang sur EDTA à un laboratoire de confirmation
réactif	pas de résultat définitif	envoyer du sang sur EDTA à un laboratoire de confirmation

tant de toujours faire en complément un test de détection d'un composant du virus, le plus simple étant le test de l'Ag p24. Cela permet de ne pas rater une primo-infection au stade de pré-séroconversion.

Il est inévitable que ces algorithmes de test conduisent parfois à des situations à première vue peu claires, p. ex. lorsque deux tests différents de dépistage sont clairement positifs sur le premier échantillon (ce qui est un indice fort en faveur d'une infection), mais que la charge virale dans le deuxième prélèvement est indétectable ou très basse. Dans un tel cas, le résultat positif ne peut pas être considéré comme confirmé positif et il faut entreprendre d'autres tests pour étayer la suspicion d'infection. Il est notamment important de déterminer si le patient a vraiment été infecté par un VIH-1 du groupe M ou s'il n'a pas plutôt été infecté à l'un des virus, beaucoup plus rares, du type du VIH-2 ou du type du VIH-1 du groupe O. Dans notre exemple où la forte réactivité

dans les deux tests de dépistage laisse présumer une bonne réponse en anticorps, le Line Immunoassay pour les VIH-1/2 d'Innogenetics (Inno-Lia HIV-1/2 Score) est le test le plus simple et le plus avantageux financièrement pour exclure une infection au VIH-2. Ce test, qui est une version améliorée du Western Blot, utilise des protéines recombinantes et des peptides synthétiques des deux types de virus, VIH-1 et VIH-2.

Les tests standard utilisés actuellement en Suisse pour mesurer la charge virale – à savoir le HIV-1 Monitor™ de Roche et son successeur, le COBAS TaqMan HIV-1 – ne détectent que rarement le VIH-2 et pas du tout les souches du VIH-1 du groupe O. D'autres tests moins pratiqués en Suisse, servant également à la quantification de l'ARN du VIH-1, tels que le NucliSens® HIV-1 QT d'Organon Teknika qui se fonde sur un principe dénommé NASBA, ou le VERSANT HIV-1 RNA 3.0 Assay (bDNA) de Bayer, ne reconnaissent pas non plus ces virus [1]. Seul le

test Abbott LCx HIV-1 détecte les souches du VIH-1 du groupe O, mais il rate également le VIH-2 [2, 3]. En conséquence, une charge virale qui ne peut pas être mise en évidence par de tels tests ou qui apparaît comme basse en présence d'un test de dépistage clairement positif est compatible avec une infection au VIH-2. Des VIH-1 appartenant à des sous-types non-B du groupe M peuvent être parfois aussi mal détectés par les techniques d'amplification de séquences d'acides nucléiques spécifiques. Il arrive même, plus rarement, que la concentration de virus du sous-type B soit grossièrement sous-estimée par de telles techniques d'analyse. Finalement, il faut encore distinguer les patients dont le virus n'est pas correctement reconnu par ces tests, des patients dont le virus est correctement quantifié, mais chez qui la virémie est réellement peu élevée, même si une diminution du nombre de cellules CD4 est pourtant observée.

Dans tous ces cas, il est avantageux d'effectuer, outre le Line Im-

munooassay, un test PERT afin de confirmer, avec cette méthode qui ne dépend pas de la séquence nucléotidique du virus, une virémie basse. Si une différence importante apparaît par rapport au résultat du test basé sur la séquence, il faut alors en chercher les causes et trouver la solution la meilleure pour quantifier le virus d'une manière exacte. Ces tâches spécifiques sont du ressort du CNR.

Le meilleur moyen de différencier le VIH-1 du VIH-2 est de recourir au Score Inno-Lia VIH-1/2, qui est plus approprié que la combinaison de deux Western Blots, l'un pour les anti-VIH-1 et l'autre pour les anti-VIH-2. Dans certains cas, le test Inno-Lia peut aussi donner des indices sur la présence d'une infection au VIH-1 du groupe O.

Il arrive parfois que, malgré une forte suspicion d'infection au VIH-1, p. ex. lors d'une longue exposition non protégée au contact d'un partenaire dont on connaît la séropositivité (VIH-1), on ne puisse confirmer de façon certaine, avec les tests disponibles sur le marché (y compris les techniques PCR commercialisées), un résultat plusieurs fois réactif au test de dépistage. Pour les cas où l'on soupçonne une concentration extrêmement faible de cellules infectées par le VIH – si toutefois il y a infection –, le CNR a développé une PCR diagnostique ultrasensible, la MEGA-PCR pour le VIH-1. Celle-ci amplifie de très grands échantillons d'ADN (jusqu'à 500 µg, alors que la quantité habituelle est de 1 à 2 µg). La sensibilité correspondante est plus de 100 fois supérieure. Le test est donc idéal pour clarifier l'état de personnes dont le résultat de dépistage est constamment réactif, pour qui l'image du WB est compatible avec une infection précoce, mais chez qui une séroconversion complète ne se produit pas [4].

Diagnostic chez les nouveaux-nés et les nourrissons

Etant donné que les anticorps IgG maternels, et donc les anticorps spécifiques au VIH, parviennent en grande quantité au fœtus par un transport actif transplacentaire, tous les enfants de mères positives pour le VIH naissent avec des concentrations élevées d'anticorps VIH et

RECOMMANDATIONS DE LA CLD POUR LE DÉPISTAGE ET LA CONFIRMATION DANS LES LABORATOIRES DE CONFIRMATION

Principes généraux:

Pour établir de manière sûre un diagnostic d'infection au VIH, il faut disposer de résultats positifs concordants avec différents tests, dont certains doivent être exécutés sur le premier échantillon, et d'autres sur le deuxième. Le choix des méthodes et des algorithmes de confirmation revient au laboratoire de confirmation, dans le respect de certaines prescriptions générales, décrites ci-dessous et dans les tableaux 1, 4, 5 et 6.

Dans un laboratoire de confirmation, des analyses plus poussées peuvent être effectuées directement sur l'échantillon réactif en vue de confirmer le résultat. Comme le premier prélèvement consiste en général en du sérum, un deuxième test de dépistage, un Line Immunoassay ou un test d'Ag p24 avec neutralisation sera envisagé. Une confirmation du résultat de dépistage réactif et la différenciation des types peuvent donc déjà se faire dans de nombreux cas sur le premier échantillon. Un deuxième prélèvement (sang sur EDTA) permettant d'exclure la possibilité d'une confusion entre prélèvements ou d'une contamination du premier matériel et permettant de déterminer la charge virale est toutefois indispensable pour établir de manière sûre et différenciée un diagnostic d'infection au VIH. Cependant, la confirmation d'un résultat de dépistage réactif avec un premier échantillon peut également se faire en totalité sur le deuxième échantillon (sang sur EDTA).

Les méthodes à disposition pour la confirmation sont présentées dans le tableau 1. Le tableau 4 contient la procédure schématisée selon les différents résultats obtenus à l'échelon du dépistage ou de la confirmation. Les tableaux 5 et 6 indiquent quelles combinaisons de résultats positifs de tests sur les premier et deuxième échantillons sont suffisantes pour confirmer l'existence d'une infection au VIH selon le concept de test VIH de l'OFSP.

La procédure de confirmation ne répond pas seulement à la question de la présence ou non d'une infection chez un patient, mais permet aussi, le cas échéant, d'identifier le type du virus (VIH-1 et/ou VIH-2). En présence d'un VIH du type 1, il faut également, dans la mesure du possible, obtenir des informations sur le groupe auquel appartient le virus impliqué (M ou O). Il est nécessaire en outre d'identifier les variants de virus qui ne peuvent pas être quantifiés de façon adéquate avec les tests actuels de détermination de la charge virale, en raison d'une séquence génétique divergeant de celle des virus courants.

Pour tous les cas nouvellement diagnostiqués, il faut procéder à un Line Immunoassay (le test Inno-Lia HIV-1/2 Score), pour différencier de façon optimale une infection au VIH-1 d'une infection au VIH-2. Ce test peut aussi fournir des indices d'une possible infection à un virus du groupe O. Pour les patients avec une primo-infection au VIH, il faut attendre la séroconversion avant de pouvoir déterminer le type du virus grâce au Line Immunoassay.

Il ne faut pas oublier que la moindre contamination avec un sérum fortement positif peut déboucher sur des résultats faussement positifs lorsque l'on procède au Line Immunoassay ou au Western Blot.

Il est indispensable que le laboratoire de confirmation lui-même effectue le premier test de détermination de la charge virale pour les cas nouvellement diagnostiqués. La connaissance de la concentration de l'ARN du VIH-1 dans le plasma est essentielle pour reconnaître les virus qui sont mal détectés par les tests de détermination de la charge virale actuels.

L'occurrence simultanée de plusieurs résultats indéterminés ne permet jamais de conclure, par effet additif, à un résultat positif.

La confirmation doit être rentable.

Le résultat réactif d'un test de dépistage combiné VIH-1/2 signifie que l'on a pu détecter des anticorps dirigés spécifiquement contre le VIH et/ou l'Ag p24. La procédure de confirmation ne peut pas se limiter à vérifier la présence d'anticorps, mais doit comprendre un test de mise en évidence des composants du virus (Ag p24, ARN du VIH-1), surtout en cas de résultat négatif d'un test pour les anticorps seuls. Sinon, les primo-infections encore au stade de la pré-séroconversion seront manquées.

En cas de primo-infection au VIH ou d'infection «récente» (c.-à-d. d'infection contractée vraisemblablement durant les six derniers mois), il faut procéder en outre à un test de résistance dans un laboratoire autorisé.

Tableau 4
Procédure schématisée pour différents résultats de dépistage et de confirmation dans les laboratoires de confirmation.
Pour de plus amples détails, veuillez consulter les tableaux 5 et 6.

Dépistage	Confirmation (sur le premier ou le deuxième échantillon)			
	Interprétation	Résultat du test de confirmation	Interprétation	Marche à suivre
Test combiné de 4 ^e génération (Ac + Ag p24)	pas d'indice d'infection au VIH	négatif	suspicion de primo-infection	en cas de suspicion de primo-infection (PHI), répéter le test 1 à 2 semaines plus tard; si l'on dispose de plasma, mesurer directement la charge virale
				si 1 ^{er} échantillon: demander un 2 ^e prélèvement (EDTA) pour exclure une confusion entre prélèvements et pour déterminer la charge virale; si la primo-infection est confirmée, procéder à un test de résistance dans un laboratoire autorisé
				si 2 ^e échantillon: charge virale; si la primo-infection est confirmée, procéder à un test de résistance dans un laboratoire autorisé
limite	incertain	positif	incertain	-> CNR
		incertain		-> CNR
		négatif (anticorps <u>et</u> composants du virus)		test de dépistage faussement réactif
réactif	Suspicion d'infection au VIH	positif	infection au VIH confirmée	si 1 ^{er} échantillon: demander un 2 ^e prélèvement (EDTA) pour exclure une confusion entre prélèvements et pour déterminer la charge virale; en cas de primo-infection confirmée, procéder à un test de résistance dans un laboratoire autorisé
		incertain	incertain	si 2 ^e échantillon: charge virale; en cas de primo-infection confirmée, procéder à un test de résistance dans un laboratoire autorisé
		incertain	incertain	-> CNR
		négatif (anticorps <u>et</u> composants du virus)	test de dépistage faussement réactif, contamination ou confusion entre prélèvements	demandeur un nouveau prélèvement

sont donc «séropositifs». Pour le diagnostic sérologique d'une infection pédiatrique au VIH, il faut attendre la disparition complète de ces anticorps, soit jusqu'à deux ans après la naissance.

Les seuls tests pouvant prouver une infection au VIH pendant cette période sont ceux qui établissent la présence de composants du virus (ARN ou ADN du VIH, Ag p24). La solution la plus judicieuse est de procéder à ces tests à l'âge de 1, 3 et 6 mois. Un test définitif à l'âge de 24 mois est réalisé en utilisant cette fois un test de mise en évidence des anticorps contre le VIH.

Il faut rappeler ici aussi que les souches du VIH-1 du groupe O et le

VIH-2 ne sont pas suffisamment, voire pas du tout, détectés par les techniques les plus souvent utilisées en Suisse pour rechercher l'ARN ou l'ADN du VIH-1 du groupe M. Dans de tels cas, un résultat négatif de ces tests de routine ne signifie donc rien. Lorsque l'on ne connaît pas le type de VIH de la mère, il est recommandé de procéder à un Line-Immunoassay sur le premier échantillon sanguin du nouveau-né, afin de pouvoir ensuite choisir le test virologique le plus approprié. La meilleure option est de pouvoir travailler avec un laboratoire ayant de l'expérience dans le diagnostic pédiatrique du VIH. Les laboratoires de confirmation ou le

CNR sont à même de donner des informations à ce sujet.

Pour les enfants plus âgés (de plus de 24 mois), on peut utiliser le même algorithme de test que pour les adultes. Il faut toutefois se rappeler que les tests Line Immunoassay ou Western Blot détectent parfois des traces des anticorps VIH maternels jusqu'à l'âge de 24 mois; ceux-ci disparaissent ultérieurement.

Question 2: Quelles sont les propriétés du virus?

L'identification de certaines propriétés génétiques ou biologiques du virus peut être très importante pour le choix des tests destinés au suivi de l'infection ou le choix des médi-

caments antirétroviraux. L'exemple le plus simple est la différenciation entre VIH-1 et VIH-2 (cf. tableau 1). Cette distinction est importante pour le pronostic général (le VIH-2 étant beaucoup moins agressif que le VIH-1), pour la probabilité d'une transmission de l'infection à un tiers (y compris de la mère à l'enfant), pour la mesure de la charge virale, pour l'exécution de tests de résistance et, finalement, pour la composition du traitement antirétroviral. Les médicaments utilisés pour lutter contre le VIH-1 ne sont pas tous efficaces contre le VIH-2; p. ex. les inhibiteurs non-nucléosidiques de la transcriptase inverse (NNRTIs) et le Ténofovir n'ont aucun effet contre le VIH-2. Il en est de même pour les souches de VIH-1 du groupe O, contre lesquels les NNRTIs sont la plupart du temps inefficaces, et dont la virémie ne peut pas être mesurée avec les tests standard pour l'ARN du VIH-1. Contrairement au VIH-2, les virus du groupe O sont cependant aussi pathogènes que les souches de VIH-1 du groupe M.

L'identification des infections au VIH-2 et au VIH-1 du groupe O doit donc s'effectuer de manière précoce et fait obligatoirement partie du diagnostic initial d'une infection au VIH.

Identification des infections au VIH-2 ou au VIH-1 du groupe O

Une attention particulière quant à une possible infection au VIH-2 est requise pour les personnes ayant un lien épidémiologique avec l'Afrique occidentale (p. ex. Côte d'Ivoire, Ghana, Sénégal, Guinée Bissau, Cameroun) ou avec les pays liés antérieurement au Portugal par l'histoire coloniale. La première étape de l'identification fait appel à des tests sérologiques, notamment le Line Immunoassay. Un résultat positif pour le VIH-2 lors de cette première analyse doit être confirmé par une PCR pour le VIH-2, test qui peut être aussi effectué en cas d'incertitude. La concentration de l'ARN du VIH-2 dans le plasma est souvent trop basse pour être détectée chez des patients même non traités, surtout s'ils sont asymptomatiques. Afin de pouvoir confirmer ou infirmer la présence d'une infection au VIH-2 par PCR, il faut absolument envoyer non seulement du

plasma, mais aussi du sang prélevé dans un tube avec EDTA. Une clarification par PCR est également indispensable lorsque les anticorps réagissent à la fois avec les antigènes d'enveloppe du VIH-1 et ceux du VIH-2 et que l'on pourrait alors avoir affaire à une double infection.

Il arrive également que l'on découvre des infections au VIH-1 du groupe O chez des patients en Suisse; ceux-ci ont généralement un lien épidémiologique avec des pays d'Afrique centrale (Cameroun, Gabon, Guinée équatoriale). Le Line Immunoassay peut aiguiller les médecins sur la piste d'une infection au groupe O: réactivité forte avec la sgp120, disproportionnée par rapport à la réactivité avec la gp41, en combinaison avec une charge virale indétectable (sauf avec le test LCx pour le VIH-1 d'Abbott); la confirmation peut être faite par une PCR spécifique pour le groupe O ou le séquençage du gène *gag* (analyses effectuées au CNR).

Il n'est pas possible de mesurer la charge virale du VIH-2 ou des souches du VIH-1 du groupe O avec les tests usuels pour l'ARN du VIH-1 pratiqués en Suisse. Une solution alternative consiste à effectuer un test PERT (*product-enhanced reverse transcriptase*), qui quantifie les particules virales non pas sur la base de l'ARN du VIH contenu dans celles-ci, mais en mesurant l'activité de la transcriptase inverse, donc indépendamment de la séquence nucléotidique.

Les patients avec un nombre de cellules CD4 en déclin rapide ou déjà très bas, et ce malgré une charge virale apparemment faible par un test RT-PCR, ne devraient jamais entamer un traitement avant que soit exclue l'hypothèse d'une infection au VIH-2 ou à une souche de VIH-1 du groupe O.

Tests de résistance

La question clinique la plus importante et la plus fréquente concernant les caractéristiques virales est de savoir si le virus d'un patient présente un profil de résistances bien particulier vis-à-vis des divers médicaments antirétroviraux. Le test de résistance est indiqué (i) en cas de primo-infection au VIH-1, (ii) avant le début du traitement chez une personne infectée après 1997, autre-

ment dit pour pratiquement tous les patients chez qui on envisage la mise en route d'un premier traitement, (iii) avant un «traitement de sauvetage» (salvage therapy) ou avant un changement thérapeutique pour toute autre raison, (iv) pendant la grossesse, avant le début d'une prophylaxie antirétrovirale, (v) chez un enfant qui a été infecté dans la période pré- ou périnatale malgré une prophylaxie antirétrovirale et (vi) chez des patients source lors d'une prophylaxie postexpositionnelle. Les indications (i), (ii), (iii) et (vi) s'appliquent autant aux adultes qu'aux enfants infectés.

Les tests de résistance les plus souvent effectués sont les tests génotypiques: on isole l'ARN du VIH-1 du plasma, on lui fait subir une transcription inverse, on amplifie et on séquence les régions du génome codant pour la transcriptase inverse, la protéase, la protéine transmembranaire gp41, l'intégrase, etc.; après traduction de la séquence nucléotidique en séquence protéique, on identifie les mutations associées à une résistance à un ou plusieurs médicaments. En se basant sur ces données, il est possible de déterminer, grâce à des algorithmes informatisés, l'efficacité attendue des différents médicaments antirétroviraux en usage. Le test de résistance phénotypique, quant à lui, s'effectue *in vitro*, selon le même principe qu'un test de résistance bactériologique; les médicaments antirétroviraux sont distribués individuellement dans des cultures de lymphocytes et on détermine de manière quantitative leur capacité à inhiber la multiplication du virus du patient, en comparaison avec un virus de type sauvage.

Le test génotypique de résistance permet par la même occasion de déterminer le sous-type du VIH-1. Il peut être important de connaître le sous-type pour évaluer si la charge virale d'un patient a été correctement mesurée par une RT-PCR dont l'exactitude dépend de la séquence virale. En effet, certaines souches virales du VIH-1 constituées de formes circulantes recombinantes (CRF) comme p. ex. le CRF02_AG sont sous-détectées, notamment par les tests RT-PCR de Roche [5]. Par ailleurs, les séquences des VIH disponibles pour tous les patients

testés permettent d'effectuer des études d'épidémiologie moléculaire. Depuis 2003, les séquences obtenues sont saisies systématiquement dans une banque de données centrale anonymisée, disponible sur Internet, dans le cadre de l'Etude suisse portant sur la résistance au VIH. Pour les patients de l'Etude suisse de cohorte VIH (SHCS), les données sont en outre automatiquement intégrées à la banque de donnée SHCS. Pour une part de

plus en plus grande de ces patients, il sera possible à l'avenir de prendre en considération le sous-type et l'identité moléculaire individuelle des virus dans les travaux de recherche.

Question 3: Quelle est la charge virale ?

Cette question est importante pour l'évaluation personnalisée du pronostic d'un patient et, en cas de traitement antirétroviral (ART), pour en contrôler l'efficacité. On peut y mé-

pondre en mesurant la concentration de certains composants du virus (cf. tableau 1). La méthode qui s'est imposée durant ces dernières années est la détermination quantitative de l'ARN du VIH-1 dans le plasma, autrement dit la mesure de la charge virale. Le nombre de copies d'ARN/ml divisé par deux correspond en théorie à la concentration des particules virales. Le test utilisé habituellement en Suisse pour mesurer la charge virale est

Tableau 5
Combinaisons de résultats de tests VIH sur les premier et deuxième échantillons qui sont suffisantes pour confirmer la présence d'une infection au VIH. Ce tableau s'applique aux laboratoires de confirmation qui effectuent des tests de confirmation sur le premier prélèvement déjà.

Dépistage	Test de confirmation	Résultats requis sur le premier échantillon	Résultats requis sur le deuxième échantillon (sang sur EDTA)	Remarques		
Test combiné VIH-1/2 (Ac + Ag p24) de 4 ^e génération	Test de confirmation sur le premier échantillon (sérum)	réactif	Line Immunoassay positif pour le VIH-1 ARN du VIH-1 ≥1000* copies/ml	infection au VIH-1 du groupe M		
		<i>autre</i> test de dépistage (de 3 ^e ou de 4 ^e génération)	Line Immunoassay positif pour le VIH-2 PCR pour l'ADN du VIH-2 positive (test réalisé au CNR)	infection au VIH-2: test approprié pour la mesure de la charge virale au CNR		
		Line Immunoassay VIH 1/2	ARN VIH-1 ≥1000* copies/ml	infection au VIH-1 du groupe M		
	test Ag p24		positif pour le VIH/VIH-1	PCR pour l'ADN du VIH-2 positive (test réalisé au CNR)	infection au VIH-2: test approprié pour la mesure de la charge virale au CNR	
			positif pour le VIH/VIH-2	ARN du VIH-1 (Roche) indétectable	infection au VIH-1 du groupe O: test approprié pour la mesure de la charge virale au CNR	
			positif pour le VIH/VIH-1; avec ou sans suspicion sérologique d'un virus du groupe O	ARN du VIH-1 ou ADN du VIH-1 positif avec des amorces et des sondes spécifiques du VIH-1 du groupe O; analyse de la séquence dans le gène gag (tests au CNR)		
			réactif avec neutralisation positive		ARN du VIH-1 ≥1000* copies/ml	infection au VIH-1 du groupe M
					Line Immunoassay positif pour le VIH-1 (attendre la séroconversion, le cas échéant)	
			réactif avec neutralisation positive		Line Immunoassay positif pour le VIH-2 (attendre la séroconversion, le cas échéant)	infection au VIH-2: test approprié pour la mesure de la charge virale au CNR
					PCR pour l'ADN du VIH-2 positive (test réalisé au CNR)	

* Lorsque l'on mesure une concentration en ARN du VIH-1 inférieure à 1000 copies/ml, on peut suspecter que la RT-PCR a mal détecté le variant du virus; il faudrait alors vérifier la charge virale au CNR à l'aide d'un test PERT. Si la charge virale est supérieure à 10 000 copies/ml, il est également nécessaire de contrôler cette hypothèse, au cas où une telle charge virale semblerait trop basse par rapport au nombre de cellules T CD4+.

- Si le test Inno-Lia HIV-1/2 Score accrédite l'hypothèse d'une infection au VIH-2 ou au VIH-1 du groupe O, la présence du virus doit être confirmée par une PCR sur l'ADN (analyse effectuée au CNR; envoyer impérativement du sang sur EDTA et pas simplement du plasma).
- En cas de primo-infection ou d'une infection contractée vraisemblablement durant les six derniers mois («infection récente»), il faut procéder à un test de résistance dans un laboratoire autorisé.

l'Amplicor HIV-1 Monitor™ de Roche ou son successeur, le COBAS Amplicor/TaqMan HIV-1. En règle générale, ce test est effectué dans sa version ultra-sensible avec un seuil de quantification minimal de 50 copies/ml (40 copies/ml pour le TaqMan).

Comme mentionné plus haut, la question du diagnostic, celle relative aux propriétés du virus et celle de la charge virale peuvent être étroitement liées: étant donné que le VIH-2 et les souches du VIH-1 du groupe O ne peuvent pas être détectés par le HIV-1 Monitor™ ou le TaqMan HIV-1, on ne peut pas mesurer la charge virale avec ces tests en cas d'infection par de tels virus. C'est pourquoi il est important d'identifier le VIH-2 et le groupe O dès le moment où l'on pose le diagnostic.

La CLD recommande donc que l'on procède à un test Inno-Lia HIV-1/2 Score pour toute infection au VIH nouvellement diagnostiquée. Pour les patients chez qui le diagnostic est posé au stade de pré-séroconversion ou de séroconversion précoce, sur la base de résultats positifs de tests pour les composants du virus (ARN du VIH-1, ADN du VIH, Ag p24), il faut attendre la séroconversion complète pour identifier le type de VIH et effectuer alors un test Inno-Lia HIV-1/2 Score. Des investigations sur des patients infectés au VIH-2 ont montré que certains isolats du VIH-2 réagissaient presque aussi bien dans les tests de détermination de la charge virale de Roche que les isolats du sous-type B du VIH-1. Par exemple, l'Amplicor HIV-1 Monitor Version 1,5 a indiqué une charge virale de 55 000 copies/ml chez un patient infecté au VIH-2; dans ce cas, la charge virale du VIH-2 n'a été sous-estimée que de 0,58 log₁₀, donc d'un facteur 4. Une charge virale élevée ne veut donc pas forcément dire qu'il s'agit d'une infection au VIH-1! Cependant, dans d'autres cas d'infection au VIH-2, l'Amplicor HIV-1 Monitor a indiqué une charge virale qui se situait au moins 2 log₁₀ au-dessous de la concentration réelle [6].

En cas de doute, notamment pour les patients chez qui le diagnostic VIH a été posé depuis un certain temps déjà et pour lesquels l'éventualité d'une infection au VIH-2 n'a

pas été clarifiée, il est légitime d'effectuer un Line Immunoassay par mesure de précaution. Ce test doit aussi être entrepris lorsque la charge virale mesurée est étonnamment basse et ne correspond pas à la situation clinique.

Malgré une sensibilité généralement bonne aux souches du VIH-1 du groupe M, il existe également au sein de ce groupe des virus dont la séquence est mal détectée par le HIV-1 Monitor™ ou le COBAS TaqMan HIV-1 [5]. La fréquence de tels cas problématiques varie selon la dynamique locale de l'épidémie. Chaque fois que l'on se trouve face à la combinaison «nombre de cellules T CD4+ bas ou en diminution malgré une charge virale constamment basse», la validité des résultats de charge virale doit être remise en cause. Etant donné que la charge virale peut aussi être mesurée indépendamment du génome par la détermination de l'activité de la transcriptase inverse contenue dans les particules du VIH, on devrait dans de tels cas procéder à un test PERT (au CNR). Ce test est également utilisé pour déterminer la charge virale du VIH-2 et des souches de VIH-1 du groupe O.

CONCEPT DE LABORATOIRE VIH - RÉPARTITION DES TÂCHES DANS LE CONCEPT DE TEST

La qualité du diagnostic VIH en Suisse ne dépend pas seulement des tests choisis pour les différentes questions diagnostiques, mais requiert également une répartition judicieuse des tâches. C'est pourquoi, outre le concept technique, on a également élaboré un concept de laboratoire. Ce dernier définit les exigences pour les laboratoires sur trois niveaux de compétence: les laboratoires de dépistage, les laboratoires de confirmation et le Centre national pour les rétrovirus. Le concept de laboratoire fixe également les missions et les devoirs inhérents au concept de test VIH et au système de déclaration dans le domaine de la santé publique.

Selon le concept de laboratoire VIH, le dépistage doit se faire dans des laboratoires cliniques reconnus par l'OFSP, laboratoires de confirmation y compris; dans certaines cir-

constances, il peut s'effectuer également dans des cabinets médicaux, des centres de consultation dirigés par des médecins ou des hôpitaux. Les laboratoires de dépistage transmettent les échantillons réactifs aux laboratoires de confirmation reconnus par l'OFSP; ces derniers sont chargés, outre leur propre activité de dépistage, de confirmer la réactivité des échantillons, d'identifier le type et le groupe du virus selon les tests et les algorithmes décrits dans les tableaux 4 à 6 ainsi que de déclarer anonymement à l'OFSP et au médecin cantonal les cas nouvellement diagnostiqués d'infection. L'examen des cas non résolus et des cas spéciaux revient au CNR, nommé par l'OFSP, qui effectue également une activité limitée de confirmation, mais pas de dépistage (le cas spécial du diagnostic VIH pédiatrique étant mis à part).

Le concept de laboratoire a été introduit principalement pour deux raisons: la qualité des tests de dépistage du VIH au début du diagnostic était bien inférieure à la qualité actuelle et il y avait nécessité épidémiologique d'un recensement le plus complet et fiable possible des infections au VIH. Ce concept, assez controversé au départ, a été bien intégré au fil des années et a fait ses preuves. Les laboratoires de confirmation et le CNR ont acquis une vaste expérience et en ont fait bénéficier les laboratoires de dépistage, contribuant ainsi au niveau élevé du diagnostic VIH en Suisse.

Les progrès actuels ont aussi élargi l'éventail des tâches à effectuer à chaque niveau du concept de laboratoire et ont permis que certaines tâches soient assumées par un laboratoire appartenant à un autre niveau. Alors qu'auparavant toutes les confirmations devaient être faites au CNR avec des Western Blots produits par ce Centre lui-même, les kits de Western Blots commercialisés ont permis rapidement aux laboratoires de confirmation d'effectuer eux-mêmes ces tests. Si l'activité de ces derniers se résumait autrefois à confirmer les prélèvements réactifs au dépistage et à déclarer à l'OFSP les patients chez qui on avait diagnostiqué un VIH pour la première fois, l'évaluation du type et du groupe de VIH ainsi que la détermination de la

Tableau 6

Combinaisons de résultats de tests VIH sur les premier et deuxième échantillons, qui sont suffisantes pour confirmer une infection au VIH. Ce tableau s'applique aux laboratoires de confirmation qui effectuent des tests de confirmation sur le deuxième prélèvement seulement.

Dépistage (sur le premier échantillon)	Test de confirmation sur le deuxième échantillon (sang EDTA ≥ 7 ml, 7 à 10 jours plus tard)				
	1. Test de confirmation	Autres tests de confirmation requis			
Test combiné VIH-1/2 (Ac + Ag p24) de 4 ^e génération	Test	Résultat requis	Test et résultat requis	Remarques	
réactif	test de dépistage VIH-1/2 (de 3 ^e ou de 4 ^e génération)	réactif	Line Immunoassay positif pour le VIH-1	infection au VIH-1 du groupe M	
			ARN du VIH-1 ≥ 1000* copies/ml		
			Line Immunoassay positif pour le VIH-2		infection au VIH-2: test approprié pour la mesure de la charge virale au CNR
	PCR pour l'ADN du VIH-2 positive (test réalisé au CNR)				
	Line Immunoassay VIH-1/2	positif pour le VIH/VIH-1	positif pour le VIH/VIH-2	ARN du VIH-1 ≥ 1000* copies/ml	infection au VIH-1 du groupe M
				PCR pour l'ADN du VIH-2 positive (test réalisé au CNR)	infection au VIH-2: test approprié pour la mesure de la charge virale au CNR
positif pour le VIH/VIH-1; avec ou sans suspicion sérologique sur le groupe O		ARN du VIH-1 (Roche) indétectable ARN du VIH-1 ou ADN du VIH-1 positif avec des amorces et des sondes spécifiques du VIH-1 du groupe O; analyse de la séquence dans le gène gag (tests au CNR)	infection au VIH-1 du groupe O: test approprié pour la mesure de la charge virale au CNR		
test Ag p24	réactif avec neutralisation positive		ARN du VIH-1 ≥ 1000* copies/ml	infection au VIH-1 du groupe M	
			Line Immunoassay positif pour le VIH-1 (attendre la séroconversion, le cas échéant)	infection au VIH-2: test approprié pour la mesure de la charge virale au CNR	
			PCR pour l'ADN du VIH-2 positive (test réalisé au CNR)		

* Lorsque l'on mesure une concentration en ARN du VIH-1 inférieure à 1000 copies/ml, on peut suspecter que la RT-PCR a mal détecté le variant du virus; il faudrait alors vérifier la charge virale au CNR à l'aide d'un test PERT. Si la charge virale est supérieure à 10 000 copies/ml, il est également nécessaire de contrôler cette hypothèse, au cas où une telle charge virale semblerait trop basse par rapport au nombre de cellules T CD4+.

- Si le test Inno-Lia HIV-1/2 Score accrédite l'hypothèse d'une infection au VIH-2 ou au VIH-1 du groupe O, la présence du virus doit être confirmée par une PCR sur l'ADN (analyse effectuée au CNR; envoyer impérativement du sang sur EDTA et pas simplement du plasma).
- En cas de primo-infection ou d'une infection contractée vraisemblablement durant les six derniers mois («infection récente»), il faut procéder à un test de résistance dans un laboratoire autorisé.

charge virale font aujourd'hui également partie de leurs attributions. Les laboratoires diagnostiques sont tenus, depuis mars 2004, de procéder au dépistage avec des tests combinés pour les anticorps anti-VIH-1/2 et l'Ag p24. En outre, le développement de «tests rapides» fiables a permis aux laboratoires diagnostiques des cabinets médicaux d'assumer en partie eux-mêmes

l'activité de dépistage. A tous les niveaux du concept de laboratoire, les tâches sont devenues plus complexes et les exigences plus hautes.

Déclaration du VIH à l'OFSP

Les déclarations à l'OFSP des résultats positifs confirmés se font après le test de confirmation et sous forme anonymisée. En vertu de l'ordonnance sur la déclaration, les

laboratoires de confirmation sont tenus de déclarer ces résultats à l'OFSP et au médecin cantonal concerné. En outre, ils doivent envoyer au médecin qui a demandé le test le formulaire «Questionnaire pour les personnes avec résultat de test VIH positif» ainsi que toute information supplémentaire dont disposerait le médecin ou le patient. Si l'échantillon d'analyse a été envoyé

par un laboratoire de dépistage, ce laboratoire est tenu d'envoyer le questionnaire et le matériel d'information au médecin demandeur, dont le nom et l'adresse doivent être transmis au laboratoire de confirmation ou à l'OFSP.

L'objectif du système de déclaration du VIH est de dresser un recensement aussi complet que possible des cas nouvellement diagnostiqués d'infection au VIH. Les déclarations de tests postérieurs à l'établissement du diagnostic doivent être évitées afin de ne pas fausser la surveillance épidémiologique du VIH. L'exclusion des déclarations de tels tests exige que le laboratoire de confirmation déclarant soit doté d'une structure informatique lui permettant de faire ces vérifications. Les prélèvements sanguins d'un même patient ne doivent en aucun cas

être envoyés au laboratoire de confirmation sous différents codes anonymes, car cette vérification ne serait alors pas possible.

Exigences auxquelles les laboratoires doivent satisfaire

Les tableaux 7 à 9 illustrent les exigences auxquelles les laboratoires doivent satisfaire pour les différents niveaux décrits dans le concept de laboratoire.

Un dépistage VIH doit être effectué selon les exigences et les devoirs des prestataires mentionnés dans le tableau 7; il peut être effectué notamment par tous les laboratoires diagnostiques reconnus par l'OFSP dans les domaines de la virologie ou de la sérologie et par tous les laboratoires des cabinets médicaux dans le cadre des soins de base.

Pour la reconnaissance par l'OFSP d'une activité de confirmation (laboratoires de confirmation), il faut non seulement remplir les exigences valables pour le dépistage du VIH mais encore les critères mentionnés dans le tableau 8. Chaque laboratoire de confirmation doit notamment pouvoir garantir qu'il dispose de l'infrastructure, des appareils et des procédures appropriés ainsi que d'un savoir-faire approfondi dans le domaine de la confirmation. Il faut donc qu'un titulaire d'un diplôme FAMH disposant des connaissances spécifiques et astreint à une formation continue reconnue dans le domaine du diagnostic et du suivi de l'infection au VIH soit responsable du laboratoire. Afin de garantir un travail irréprochable durant la période de mise en route, les laboratoires qui voudraient assumer une

Tableau 7

Concept de laboratoire: objectif, exigences, devoirs et méthodes au niveau des laboratoires de dépistage

Objectif	Le dépistage du VIH identifie de manière sélective, parmi tous les sujets testés, ceux qui sont infectés au VIH-1 ou au VIH-2.
Prestataire	Laboratoire clinique
Exigences et devoirs	<ul style="list-style-type: none"> • est reconnu par l'OFSP comme laboratoire de microbiologie et de sérologie; • dispose en permanence d'un personnel qualifié pour l'exécution et l'interprétation des tests; • recourt uniquement aux tests VIH certifiés CE; • respecte les recommandations de la commission Laboratoire et diagnostic du VIH/sida (CLD) de l'OFSP; • participe régulièrement à des tests inter-laboratoires nationaux ou internationaux pour des contrôles de qualité; • lors de résultats réactifs, veille à envoyer le matériel d'analyse adéquat et en quantité suffisante à un laboratoire de confirmation; • envoie au laboratoire de confirmation toutes les données cliniques, la motivation et les résultats du dépistage VIH-1/2 en même temps que le matériel d'analyse; • transmet au médecin traitant les résultats obtenus par le laboratoire de confirmation, les formulaires de déclaration et le matériel d'information; • communique au laboratoire de confirmation le nom et l'adresse du médecin traitant pour la déclaration de cas nouvellement diagnostiqués de VIH;
Méthodes	• utilise un test combiné VIH-1/2 certifié CE (Ac + Ag p24) de 4e génération.
Prestataire	Cabinet médical
	Centre de tests VIH anonymes ou de conseil sous supervision médicale où des prises de sang sont effectuées
	Hôpital (p. ex. pour le diagnostic rapide chez le patient-source d'une blessure par piqûre d'aiguille en vue de prendre une décision quant à la prophylaxie postexpositionnelle VIH)
Exigences et devoirs	<ul style="list-style-type: none"> • satisfait aux critères du personnel qualifié fixés par la QUALAB; • est disponible à tout moment pour l'exécution et l'interprétation des tests; • ne recourt qu'à des tests VIH certifiés CE; • respecte les recommandations de la commission Laboratoire et diagnostic du VIH/sida (CLD) de l'OFSP; • participe régulièrement à des tests inter-laboratoires nationaux ou internationaux pour des contrôles de qualité; • lors de suspicion d'une primo-infection VIH, envoie le matériel d'analyse à un laboratoire de confirmation; • lors de résultats réactifs, veille à envoyer le matériel d'analyse adéquat et en quantité suffisante à un laboratoire de confirmation; • envoie au laboratoire de confirmation toutes les données cliniques, la motivation et les résultats du dépistage VIH-1/2 en même temps que le matériel d'analyse;
Méthodes	• utilise un «test rapide» VIH-1/2 certifié CE.

fonction de confirmation VIH et qui réunissent les conditions de base recevront d'abord, sur demande, une reconnaissance limitée à 2 ans pour la confirmation VIH. Durant ce temps, ils devront prouver à l'OFSP qu'ils sont capables d'assumer une telle fonction, notamment en respectant le concept de test VIH. De plus, leurs décisions seront transmises à la CLD et à l'OFSP et seront contrôlées pendant cette phase par le CNR.

Pour garantir la qualité de l'activité de confirmation au quotidien, on exige en général, pour le renouvellement de la reconnaissance, un nombre minimum de 20 déclarations VIH à l'OFSP par an. Cela vaut

aussi bien pour les laboratoires de confirmation VIH établis que pour les nouveaux. Si ce nombre n'est pas atteint, l'OFSP doit vérifier si la qualité de la confirmation VIH est encore assurée avant de renouveler la reconnaissance.

D'autres mesures pour assurer la qualité exigée sont encore introduites: tous les laboratoires de confirmation doivent déclarer leurs algorithmes de confirmation et les kits de tests utilisés sur l'Intranet de la CLD; ils doivent en outre veiller à tenir ces données constamment à jour. Ces algorithmes doivent permettre de garantir que la distinction entre les souches de VIH-1 du groupe M et les virus d'autres groupes/

types (VIH-1 du groupe O; VIH-2) a été établie à l'aide des méthodes les plus adéquates et si possible les moins chères, de telle manière que les cas de virus n'appartenant pas au groupe M soient transmis au CNR pour confirmation et détermination de la charge virale. En outre, les variants de virus du groupe M qui ne sont pas bien reconnus par les méthodes de RT-PCR actuelles (à suspecter chez les patients avec moins de 1000 copies d'ARN du VIH-1/ml) doivent être identifiés et transmis au CNR pour élucidation. Les laboratoires de confirmation participent à des contrôles de qualité externes pour tous les tests utilisés pour le dépistage VIH, la confirma-

Tableau 8

Concept de laboratoire: objectifs, exigences, devoirs et méthodes au niveau des laboratoires de confirmation (niveau de confirmation I).

Objectifs	<ul style="list-style-type: none"> • Confirmation d'une infection au VIH comme fondement à l'établissement d'un diagnostic VIH par le médecin traitant • Identification des cas où l'on peut suspecter des souches de VIH aberrantes, mal détectées par les techniques de mesure de l'ARN du VIH-1 habituelles (VIH-2, groupe O du VIH-1, etc.); transmission de ces cas au CNR • Détermination de la charge virale pour le VIH-1 du groupe M • Déclaration des cas d'infection au VIH et du type de VIH aux autorités sanitaires • Collaboration avec la CLD et participation aux projets communs de la CLD • Collaboration avec l'OFSP
Prestataire	Laboratoire de confirmation (fonctionne aussi comme laboratoire de dépistage)
Exigences et devoirs	<p>En plus des exigences et devoirs fixés pour les laboratoires de dépistage:</p> <ul style="list-style-type: none"> • est reconnu par l'OFSP comme laboratoire de microbiologie et sérologie ainsi que comme laboratoire de confirmation; • la première reconnaissance est limitée à deux ans. Durant cette période, toutes les confirmations VIH seront présentées au CNR pour supervision. Si moins de 20 infections VIH confirmées sont présentées par an, la qualité des confirmations VIH réalisées doit être vérifiée avant que la reconnaissance puisse être renouvelée; • les nouveaux laboratoires de confirmation et les laboratoires établis doivent atteindre un nombre de 20 cas positifs VIH confirmés par an. Si cette fréquence n'est pas atteinte, la qualité des confirmations VIH réalisées doit être vérifiée avant que la reconnaissance puisse être renouvelée; • un titulaire d'un diplôme FAMH disposant de connaissances spécifiques et astreint à une formation continue reconnue dans le domaine du diagnostic et du suivi de l'infection au VIH est responsable du laboratoire; • les conditions adéquates (locaux, personnel, logistique et méthodes) pour l'exécution de tests d'amplification des acides nucléiques sont remplies; • met l'algorithme de confirmation utilisé et les tests effectués sur l'Intranet de la CLD et actualise ces informations; • prend part aux contrôles de qualité externes pour tous les tests de dépistage, de confirmation et de monitoring du VIH effectués; met sur l'Intranet de la CLD toutes les informations pertinentes comme les centres de contrôle de qualité, les résultats, le degré de réalisation des objectifs et actualise ces informations régulièrement; • la fréquence minimale des tests effectués pour la confirmation VIH est d'une fois par semaine; • transmet les cas où l'on peut suspecter des souches VIH aberrantes au CNR; • déclare les cas VIH au médecin cantonal et à l'OFSP; • participe à la CLD et à ses projets en cours; • coopère avec l'OFSP.
Méthodes	<p>Comme le laboratoire de dépistage; tests supplémentaires qui satisfont aux exigences pour la confirmation VIH selon les tableaux 6 et 7, notamment:</p> <ul style="list-style-type: none"> • deuxième test de dépistage, différent, certifié CE; • Line Immunoassay certifié CE; • recherche d'acides nucléiques et quantification de l'ARN du VIH avec une méthode standard disponible sur le commerce, certifiée CE.

Tableau 9

Concept de laboratoire: objectifs, exigences, devoirs et méthodes au niveau du CNR (niveau de confirmation II)

Objectifs	<ul style="list-style-type: none"> • Confirmation ou exclusion d'une infection au VIH y compris dans les cas complexes • Identification de souches de VIH aberrantes • Mesure adéquate de la charge virale y compris pour les souches VIH aberrantes • Solution à d'autres questions particulières • Déclaration de l'infection au VIH et du type de VIH aux autorités sanitaires • Collaboration au sein de la CLD et participation à ses projets communs • Collaboration avec l'OFSP
Prestataire	Centre national pour les rétrovirus
Exigences	<p>Comme le laboratoire de confirmation (sans le dépistage)*; en outre</p> <ul style="list-style-type: none"> • est nommé par l'OFSP comme <i>Centre national pour les rétrovirus</i>; • remplit les devoirs spécifiques du mandat de l'OFSP;
Méthodes disponibles	<ul style="list-style-type: none"> • méthodes sensibles et spécifiques, sérologiques ou de biologie moléculaire, pour la reconnaissance et le typage des différentes souches VIH (inclut également des méthodes sans certification CE); • quantification des souches VIH que les méthodes standard ne peuvent pas assurer (inclut également des méthodes sans certification CE);
Devoirs	<ul style="list-style-type: none"> • déclaration des cas VIH au médecin cantonal et à l'OFSP; • fonction de conseil auprès des laboratoires de confirmation; • monitoring des laboratoires de confirmation nouvellement reconnus; • collaboration au sein de la CLD et à ses projets en cours; • coopération avec l'OFSP.

* Les chiffres annuels minimaux pour la confirmation ne comptent pas ici, étant donné que le dépistage et les confirmations de routine qui s'ensuivent ne font pas partie des tâches primaires du CNR et que même les cas confirmés au CNR sont déclarés par les laboratoires de confirmation.

tion et le monitoring du VIH, pour autant que de tels contrôles soient disponibles; en outre, ils mettent ces informations sur l'Intranet de la CLD et les tiennent à jour.

Les laboratoires de confirmation réalisent les tests de confirmation au moins une fois par semaine, font suivre au CNR les cas pour lesquels une infection à un virus non-M est suspectée, déclarent les cas de VIH à l'OFSP et au médecin cantonal, et font parvenir au médecin traitant ou aux patients les questionnaires, le matériel d'information et autres documents pertinents. Ils participent activement au travail de la CLD et coopèrent avec l'OFSP.

Les exigences et les devoirs du CNR (niveau de confirmation II) sont décrits dans le tableau 9. Le CNR est nommé par l'OFSP, ce qui n'est pas le cas des laboratoires de confirmation; il doit donc remplir un mandat de prestations spécifique défini directement par l'OFSP et régulièrement vérifié et adapté. En plus de ce mandat de prestations ainsi que des exigences et devoirs fixés pour les laboratoires de confirmation, le CNR doit disposer de méthodes sensibles et spécifiques pour la reconnaissance et le typage de l'ensemble des souches de VIH existantes, y compris les souches

aberrantes, et pour la quantification correcte de toutes ces souches. Le CNR conseille les laboratoires de confirmation et contrôle les laboratoires de confirmation nouvellement reconnus pendant leurs deux premières années d'activité.

Le dépistage et la confirmation de routine ne font pas partie des tâches du CNR et les cas de niveau II de confirmation (c.-à-d. confirmés par le CNR) sont déclarés par les laboratoires de confirmation. De ce fait, le CNR n'est pas soumis à l'exigence d'un minimum de 20 déclarations VIH à l'OFSP par an ni à celle d'une fréquence hebdomadaire des analyses.

Collaboration entre les différents niveaux et responsabilités

Une collaboration optimale entre les acteurs des différents niveaux est indispensable pour assurer la qualité du processus de confirmation. Il est donc nécessaire que les laboratoires de dépistage mettent à disposition des laboratoires de confirmation du matériel d'analyse en quantité suffisante et de qualité adéquate. Il est également important que les données cliniques disponibles, la motivation ainsi que les résultats des tests VIH exécutés dans

les laboratoires de dépistage soient communiqués au laboratoire de confirmation. Il faut indiquer en outre le nom et l'adresse du médecin traitant demandeur, cette information étant nécessaire pour la déclaration à l'OFSP. Comme la responsabilité pour les examens de confirmation est assumée exclusivement par les laboratoires de confirmation, il revient à eux seuls, selon leur appréciation, de décider quels tests sont nécessaires pour remplir le mandat de confirmation dans le cadre du concept de test VIH de manière sûre et complète, mais également peu coûteuse. Un mandat de confirmation VIH ne consiste pas à demander l'exécution de tel ou tel test en particulier et de refuser l'exécution d'autres tests. Il s'agit bien plutôt d'un mandat global destiné à répondre aux trois questions centrales qui se posent pour tout cas nouvellement diagnostiqué d'infection VIH (cf. concept technique et tableau 1).

Afin de pouvoir rassembler toutes les informations nécessaires pour répondre à ces trois questions, il est impératif d'envoyer le premier et le deuxième échantillon d'un patient au même laboratoire de confirmation.

LA COMMISSION LABORATOIRE ET DIAGNOSTIC DU VIH/SIDA DE L'OFSP (CLD)

A côté des laboratoires, qui sont les prestataires véritables, la Commission laboratoire et diagnostic du VIH/sida de l'OFSP (CLD) joue un rôle capital pour garantir la qualité du diagnostic VIH en Suisse. La CLD, qui a remplacé en 2000 la sous-commission Immunologie et virologie de la Commission fédérale pour les problèmes liés au SIDA (CFS), réunit les responsables des laboratoires de confirmation et du CNR ainsi que les collaborateurs de l'OFSP et de Swissmedic qui travaillent spécifiquement l'un sur l'épidémiologie du VIH, l'autre sur le contrôle et l'enregistrement des tests VIH commercialisés. Beaucoup de membres de la CLD sont également engagés dans l'étude suisse de cohorte VIH (SHCS) et poursuivent eux-mêmes des recherches dans le domaine du VIH et des autres rétrovirus. Les connaissances spécialisées sur le VIH et le savoir diagnostique en général sont ainsi capitalisés d'une manière optimale pour l'évaluation des problèmes liés au diagnostic VIH et pour la recherche des solutions les meilleures.

En tant que commission consultative de l'OFSP, la CLD a pour tâche principale d'élaborer des directives et des recommandations garantissant la haute qualité du diagnostic VIH et son amélioration constante. Cela implique la mise à jour permanente du concept technique et des modifications occasionnelles du concept de laboratoire. En outre, la CLD est chargée d'encourager la mise en réseau des laboratoires de confirmation et la collaboration entre eux et avec le CNR en mettant sur pied des rencontres régulières et des projets communs; elle doit également améliorer la transmission des informations importantes à l'OFSP, à la commission Clinique et thérapie du VIH/sida et à la CFS, ainsi que faire valoir le savoir diagnostique de la CLD au sein de ces organes. La CLD conseille l'OFSP, notamment pour la reconnaissance des laboratoires de confirmation, dont les responsables prennent part à la CLD et s'engagent à participer activement à ses activités.

Membres de la CLD

Mme Dr ès sc C. Andreutti (Lausanne), Dr. Ph. Bürgisser (Lausanne), Dr. phil. R. Dubs (Zurich), Mme Dr. med. I. Steffen (Bâle), Dr. phil II M. Gebhardt (OFSP Berne), Mme Dr. med. M. Gorgievski (Berne), Dr. B. Güntert (Lucerne), Mme Dr. G. Martinetti (Bellinzona), PD Dr. med. L. Matter (Bâle), Dr. phil. nat. Chr. Niederhauser (Berne), Mme Dr S. Yerly (Genève), Dr. A. Schlegel (Swissmedic Berne), Dr. med. dipl. biol. D. Schultze (Saint-Gall), Prof. Dr. med. J. Schüpbach (CNR Zurich; président). ■

Office fédéral de la santé publique
Unité de direction Santé publique
Division Maladies transmissibles
Section Maladies infectieuses
Téléphone 031 323 87 06

Littérature

1. Panel on Clinical Practices for Treatment of HIV Infection convened by the Department of Health and Human Services (DHHS). Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in HIV-1-Infected Adults and Adolescents. [http://www.aidsinfo.nih.gov/guidelines/ adult/AA_032304.pdf](http://www.aidsinfo.nih.gov/guidelines/adult/AA_032304.pdf), 2004.
2. Plantier JC, Gueudin M, Damond F, Braun J, Mauclore P, Simon F. Plasma RNA quantification and HIV-1 divergent strains. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2003; 33: 1-7.
3. Katsoulidou A, Petrodaskalaki M, Sypsa V, et al. Evaluation of the clinical sensitivity for the quantification of human immunodeficiency virus type 1 RNA in plasma: Comparison of the new COBAS TaqMan HIV-1 with three current HIV-RNA assays-LCx HIV RNA quantitative, VERSANT HIV-1 RNA 3.0 (bDNA) and COBAS AMPLICOR HIV-1 Monitor v1.5. *J Virol Methods* 2005.
4. Boni J, Shah C, Flepp M, Luthy R, Schupbach J. Detection of low copy numbers of HIV-1 proviral DNA in patient PBMCs by a high-input, sequence-capture PCR (Mega-PCR). *J Med Virol* 2004; 72: 1-9.
5. Swanson P, de Mendoza C, Joshi Y, et al. Impact of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) genetic diversity on performance of four commercial viral load assays: LCx HIV RNA Quantitative, AMPLICOR HIV-1 MONITOR v1.5, VERSANT HIV-1 RNA 3.0, and NucliSens HIV-1 QT. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 3860-8.
6. Schutten M, van der Ende ME, Niesters HGM, Osterhaus ADME. Cross-reactivity of the Cobas Amplicor HIV-1 Monitor Version 1.5 Quantitative Plasma HIV-1 RNA Assay with HIV-2. Abstract Nr. 959. 11th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. San Francisco, CA, 2004.