

Le diagnostic de l'infection HIV et l'interprétation des résultats de laboratoire

P. Erb, I. Steffen

En 1981, les premiers cas de SIDA ont été décrits dans la littérature [1, 2] et deux ans plus tard on identifia le germe responsable de cette maladie, à savoir le virus de l'immunodéficience humaine (Human Immunodeficiency Virus = HIV) [3]. Les premiers tests HIV de détection d'anticorps contre le virus sont apparus sur le marché en 1985. La qualité incertaine de ces premiers tests commerciaux ne fit d'ailleurs que souligner la précarité d'un diagnostic fiable et rendit d'autant difficile le contrôle des données épidémiologiques concernant l'infection. C'est pourquoi l'Office fédéral de la santé publique (OFSP) mit sur pied un concept de laboratoire coordonnant trois degrés, à savoir les laboratoires de dépistage, les laboratoires régionaux de confirmation nommés par l'OFSP (autrefois au nombre de huit, aujourd'hui de dix) et le Centre national pour les rétrovirus (CNR). Ce concept aujourd'hui toujours en vigueur et régulièrement adapté aux nouveautés a significativement contribué au standard de qualité élevé du diagnostic HIV en Suisse [4, 5]. Aujourd'hui, on connaît bien le déroulement d'une infection HIV. Une fois dans l'organisme, le virus de l'immunodéficience humaine montre au début un taux de réplication énorme. Les grandes quantités de virus présentes d'abord dans le sang diminuent en général ensuite graduellement en l'espace de semaines, sous l'effet du développement progressif de la réponse immunitaire. Le virus continue certes à se multiplier, mais reste plus ou moins tenu sous contrôle par le système immunitaire. Sans traitement et sur des années, cet équilibre labile se rompt ensuite lentement en défaveur du système immunitaire, marqué par la diminution constante du nombre de lymphocytes T helper CD4+. Les infections opportunistes et autres maladies sont la conséquence de cette faiblesse immunitaire et avec leur apparition commence en fait le stade de SIDA.

Le progrès technique a beaucoup contribué à ces importantes connaissances pathogéniques, en particulier le développement des techniques quantitatives d'amplification *in vitro* telles que par exemple la PCR (Polymerase Chain Reaction), qui permet la mesure de la quantité de virus (charge virale) dans le plasma sanguin périphérique. De même, grâce au développement

des tests combinés, il est possible de mesurer en même temps les antigènes et anticorps HIV, ce qui permet de réduire la fenêtre immunologique, c'est-à-dire l'espace de temps qui sépare le moment de l'infection de celui où les premiers anticorps apparaissent.

Des interrogations cliniques claires sont la condition essentielle pour une utilisation rationnelle et économique des moyens diagnostiques. Ceci doit être discuté selon les points de vue suivants:

- La palette de tests HIV: de quels dispose-t-on et que permettent-ils de dire?
- Les tests HIV: procédures et mise en œuvre
- Le résultat des tests: que permet-il d'affirmer, comment doit-il être interprété?
- Tests rapides et «hometest»: quelle est leur place?

La palette de tests HIV: de quels tests dispose-t-on et que permettent-ils de dire?

Il n'existe que très peu d'autres maladies infectieuses pour lesquelles on dispose d'une palette de tests aussi vaste. Les possibilités de tests actuellement disponibles en Suisse sont brièvement caractérisées ci-dessous.

Tests de détection des anticorps: on utilise actuellement des tests dits de deuxième et troisième génération. Les anticorps anti-HIV apparaissent quelques semaines à quelques mois après le contagé. Contrairement aux tests de deuxième génération qui ne mettent en évidence que les anticorps spécifiques de la classe IgG, les tests de troisième génération permettent en plus le dosage des anticorps IgM et IgA, plus précoces. Les tests de troisième génération permettent donc de réduire significativement la fenêtre immunologique par rapport aux tests de deuxième génération. Il faut cependant tenir compte du fait que le temps de latence jusqu'à la mise en évidence des anticorps saisis par les tests de troisième génération est en règle générale de plus de trois semaines et dans certains cas très rares peut s'étendre jusqu'à trois mois et plus [6].

Correspondance:
Dr. med. Peter Erb
Institute für Medizinische
Mikrobiologie
Universität Basel
Petersplatz 10
CH-4003 Basel

E-mail: peter.erb@unibas.ch

Tests combinés (tests de quatrième génération): ces tests, aussi nommés combi ou duo sont arrivés dernièrement sur le marché et remplaceront bientôt définitivement les précédents. Les tests combinés dosent simultanément les anticorps spécifiques et l'antigène p24. Ils sont remarquablement performants pour la détection des primo-infections. Grâce à la mise en évidence de l'antigène p24, leur sensibilité est plus élevée que celle des tests de pure détection d'anticorps et ils permettent de réduire encore la fenêtre diagnostique d'environ six jours [7, 8].

Un test ayant réagi ne permet cependant pas de dire si c'est la présence de l'antigène p24 ou des anticorps ou des deux qui a été mise en évidence. On ne peut donc pas non plus utiliser ce test comme un test de l'antigène p24.

Test de l'antigène p24: l'utilisation de ce test n'est pertinente que pour la détection d'une primo-infection, par exemple en combinaison avec un test de deuxième ou de troisième génération ou encore comme test complémentaire en cas de test combiné positif. Un test de l'antigène p24 doit cependant toujours être confirmé par une neutralisation.

Westernblot: il permet la confirmation d'un test de détection des anticorps positif sur la base de la mise en évidence d'anticorps spéci-

fiques contre divers antigènes HIV. Son avantage réside dans la possibilité de différencier une infection HIV-1 d'une infection HIV-2. En cas de primo-infection, le westernblot est cependant négatif ou positif douteux.

Mise en évidence du génome: Il existe deux possibilités, à savoir la mise en évidence de l'ARN-HIV dans le plasma ou la mise en évidence d'ADN proviral dans les lymphocytes au moyen du PCR. La mise en évidence d'ADN proviral peut être utilisée pour clarifier une sérologie douteuse. Un test négatif n'exclut cependant pas une infection.

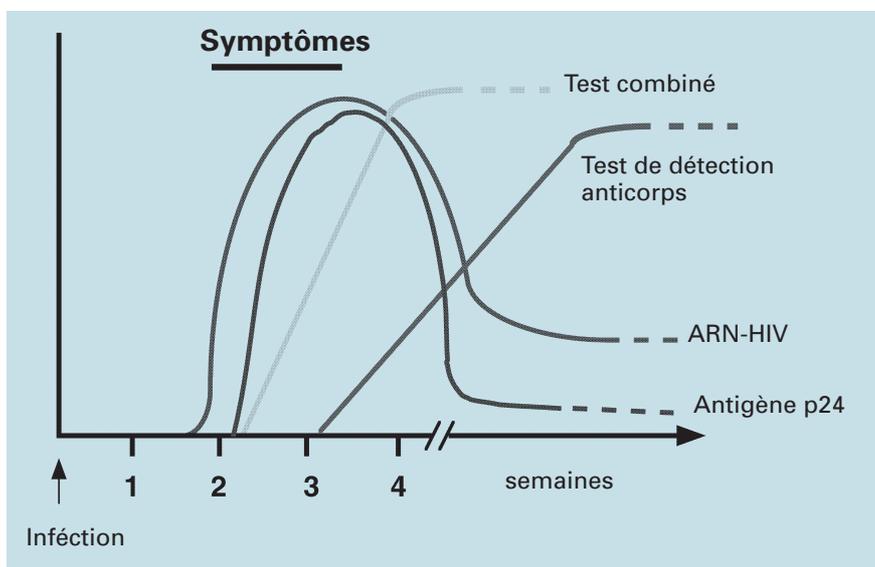
L'ARN-HIV est mis en évidence quantitativement au moyen du RT-PCR; le principe en est le «comptage» du nombre de copies du virus (charge virale). La détermination de la quantité de particules virales dans le plasma sanguin est importante pour poser l'indication à un traitement anti-rétroviral ainsi que pour le contrôle de l'évolution [9]. En Suisse, on utilise généralement la méthode ultrasensible dont la limite de mise en évidence se situe à 20 copies de virus/mL. La détermination de la charge virale en cas d'infection HIV-2 (rare) peut être obtenue par un test alternatif auprès du Centre national pour les rétrovirus.

En cas de test de détection des anticorps ou de test combiné nettement positifs, le HIV-ARN-PCR peut, pour des raisons d'économie, être effectué sur un deuxième échantillon (plasma) comme confirmation et, en même temps, pour décider du traitement.

Figure 1.

Déroulement hypothétique d'une primo-infection HIV.

Les intervalles de temps indiqués ne sont pas absolus et correspondent tout au plus aux cas (rares) optimaux. Par contre, la séquence d'apparition des divers paramètres sanguins est exacte. Une symptomatologie aiguë peut manquer. Les tests actuellement utilisés (tests de troisième génération) pour la détection des anticorps saisissent les anticorps HIV spécifiques des classes IgG et IgM. Les tests combinés (tests de quatrième génération) saisissent en plus l'antigène p24 et réagissent par conséquent dans un délai plus bref que les tests de troisième génération. L'ARN-HIV se positive le premier, mais il n'est pas utilisé comme test primaire pour des raisons de coût et de spécificité.



Tests HIV: procédures et mise en œuvre

Etant donné l'importance des conséquences d'un éventuel résultat positif des tests, une bonne connaissance du patient est indispensable. Une information détaillée sur les risques effectifs de transmission, le test et son interprétation ainsi que les conséquences d'un résultat positif aident non seulement le patient à évaluer correctement le résultat auquel on peut s'attendre, mais peut également contribuer à la prévention en favorisant un changement de comportement. Le consentement du patient à pratiquer un test HIV est indispensable. Du point de vue diagnostique, il convient de distinguer quatre situations:

1. **Dépistage.** Un test HIV est ordonné sans anamnèse d'exposition ou sans symptomatologie spécifique: il n'y a pas de suspicion d'infection spécifique. La probabilité d'une infection HIV est très faible. En effet, la prévalence moyenne d'infection HIV se situe en Suisse aux alentours de 0,3%.
2. **Clarification d'une suspicion d'infection HIV déjà constituée:** la probabilité d'une in-

fection HIV est nettement supérieure que dans le cas d'un dépistage. Si le test de dépistage des anticorps ou le test combiné s'avèrent positifs, on ne peut cependant en aucun cas renoncer à une confirmation du résultat, ne serait-ce qu'en vertu de la possibilité d'une confusion d'échantillons. En présence d'un test de dépistage avec un résultat négatif contrairement aux prévisions (p.ex. infection opportuniste sans raison apparente), il faut envisager des investigations complémentaires ou un contrôle quelques jours ou semaines plus tard.

3. **Clarification d'une suspicion de primo-infection** (fig. 1): comme on l'a dit plus haut, d'importantes concentrations virales et par conséquent l'antigène p24 sont présents dans la phase précoce de l'infection. La mise en œuvre isolée du test de détection des anticorps n'est dans ce cas pas pertinente du fait qu'à ce stade, il est possible qu'aucun anticorps ne soit encore détectable. Les tests combinés ou éventuellement un test de détection des anticorps en tandem avec un test de l'antigène p24 sont donc les mieux appropriés en cas de suspicion de primo-infection. Quant au westernblot, il donne régulièrement des résultats douteux ou négatifs à ce stade. Une mise en évidence quantitative du génome serait ici certainement hautement positive. Mais pour des raisons

économiques, il convient de réserver ce test pour les indications au traitement antiviral. Etant donné que le test antigène p24-HIV-1 et les procédés de mise en évidence du génome viral sont tous spécifiques du HIV-1, il faut utiliser des méthodes spéciales en cas de suspicion de primo-infection HIV-2.

4. **Détermination du pronostic, indication au traitement et suivi:** le patient est HIV-positif connu. La mesure de la concentration virale et du nombre de cellules CD4 dans le sang permettent de juger de sa situation. L'indication au traitement est donnée par la mesure de la quantité de virus et du nombre de cellules CD4. Les recommandations y relatives ont été publiées dans le Bulletin de l'Office fédéral de la santé publique [9].

D'une manière générale, la performance d'un test diagnostique est d'autant meilleure que son indication a été correctement évaluée et posée et qu'elle est connue du laboratoire qui effectue l'analyse.

Le résultat des tests: que permet-il d'affirmer, comment doit-il être interprété

Le résultat des tests de laboratoire devrait être disponible dans les deux jours. Le tableau 1

Tableau 1. Procédures lors d'examens HIV.

Résultat du test			
Test de détection anticorps HIV 1+2	Test combiné (dét. AC + p24)	Interprétation	Procédure ultérieure
Positif	Positif	Positif	Envoyer un nouvel échantillon de sang au laboratoire pour confirmation (si mesure concomitante de la charge virale désirée, utiliser un tube CPT ou EDTA).
Négatif	Négatif	Négatif	En cas de comportement à risque, répéter le test périodiquement
Positif ou limite	Négatif ou limite	Evt. faux positif	Suivi de contrôle après quelques jours; evt. ADN-HIV-PCR ou antigène p24
Négatif ou limite	Positif	Evt. faux positif ou primo-infection	Antigène p24 négatif Antigène p24 confirmé positif (= neutralisable) Envoyer immédiatement un nouvel échantillon de sang au laboratoire pour contrôle (si mesure concomitante de la charge virale désirée, utiliser un tube CPT ou EDTA).

Actuellement, la plupart des laboratoires utilisent des tests de troisième génération (détection des anticorps HIV) ou conjointement des tests de troisième et quatrième génération (tests combinés). Le tableau d'interprétation ci-dessus est valable pour les tests conjoints. Les laboratoires qui n'utilisent que des tests de troisième génération devraient vérifier un test de détection par un autre test avant de transmettre le résultat au mandant.

Quintessence

- Pour un examen HIV, envoyez un échantillon de sang natif au laboratoire.
- Une suspicion de primo-infection est à communiquer impérativement au laboratoire.
- Si vous recevez du laboratoire un résultat «positif», «limite» ou «incertain» sans qu'un test de confirmation ait été pratiqué.
- Envoyez immédiatement un nouvel échantillon de sang EDTA ou CPT au laboratoire, pour confirmation du premier résultat.
- Sur cet échantillon on peut déterminer la charge virale en vue d'un traitement anti-rétroviral ou pratiquer un autre test de confirmation. Seul le résultat «confirmé positif» ou une quantité de virus vérifiée justifient le diagnostic «infection HIV».
- Si vous utilisez le test rapide dans votre cabinet, vous devez également soumettre un résultat positif à confirmation.
- Avec le résultat «confirmé positif», vous recevez un formulaire d'annonce initial, à renvoyer dûment rempli à l'OFSP.

livre des aides à l'interprétation du résultat. Les tests de détection utilisés aujourd'hui sont assez fiables pour indiquer une probabilité élevée d'infection HIV en cas de positivité. En cas de suspicion de primo-infection et si le test combiné est positif, le laboratoire pratiquera immédiatement un test de l'antigène p24. Si le laboratoire de première ligne ne pratique pas de test combiné, il pratiquera un test de l'antigène p24 en complément du test de détection des anticorps. Si dans ce cas le test de l'antigène p24 s'avère positif et que ce résultat est confirmé par une neutralisation, la primo-infection peut être affirmée. Dans tous les cas cependant, une confirmation ultérieure pratiquée dans les plus brefs délais est nécessaire, ne serait-ce qu'en raison de la possibilité d'une confusion d'échantillons. Une deuxième prise de sang est ici nécessaire. En vue d'un éventuel traitement, on recommande de profiter de ce deuxième prélèvement pour une détermination de la charge virale. Pour la détermination de la charge virale, le laboratoire a besoin de plasma, donc d'un prélèvement de sang EDTA ou CPT. En effet, le sang hépariné est proscrit parce que l'héparine peut perturber l'analyse. Si le laboratoire de première ligne n'est lui-même pas autorisé en tant que laboratoire de confirmation, celle-ci sera confiée à l'un des dix laboratoires de confirmation, lequel transmettra le résultat au laboratoire de première ligne. Il faudrait laisser au laboratoire de confirmation la décision du choix du test de confirmation (p.ex. westernblot). En cas de résultat incertain auprès du laboratoire de confirmation, celui-ci impliquera à son tour le Centre national pour

les rétrovirus. On ne peut conclure à une infection HIV qu'en cas de résultats positifs dûment confirmés. S'il s'agit d'une infection HIV nouvellement découverte, les résultats des examens de laboratoire sont annoncés à l'OFSP de manière anonyme par le laboratoire de confirmation [10]. En plus, le médecin traitant reçoit du laboratoire un formulaire d'annonce initiale à renvoyer dûment rempli à l'OFSP [10]. Ces annonces ont une importance capitale pour l'OFSP, car elles sont une condition indispensable à une analyse fiable de la situation épidémiologique en Suisse.

Tests rapides et «hometest»

Le test rapide HIV fait partie des analyses qu'on peut effectuer au cabinet du médecin de premier recours. En Suisse, il n'existe actuellement qu'un test rapide correspondant aux spécifications d'un test de troisième génération, admis par l'OFSP et disponible sur le marché. Il ne convient cependant pas pour la détection d'une primo-infection. Avec l'accord éclairé du patient, son usage est autorisé pour:

- le Corps médical avec autorisation de pratiquer à titre indépendant
- les tests HIV anonymes et les centres de conseil pratiquant les prises de sang, sous contrôle médical
- les hôpitaux (p.ex. diagnostic rapide lors de blessure par piqûre, pour clarification post-exposition et préventive).

Le test rapide ne doit par contre ni être exécuté en pharmacie ni être livré au public*. Le test se prête à la mise en évidence d'anticorps dans le sérum ou le plasma. En utilisant un réactif complémentaire, on peut aussi utiliser du sang capillaire (sang complet) avec les mêmes sensibilité** et spécificité***. On peut lire le résultat après 15 à 30 minutes. Il n'est donc pas beaucoup plus rapide que les tests de troisième génération automatisés, mais il est beaucoup plus simple à pratiquer. En cas de résultat positif ou incertain, il est nécessaire, comme avec tous les autres tests HIV, d'envoyer un échantillon de sang à un laboratoire de confirmation. La participation régulière aux contrôles de qualité est également impérative pour l'utilisation conforme du test rapide.

Pour le «hometest», il s'agit de distinguer entre prélèvement à domicile et test effectué à domicile. Un test avec prélèvement à domicile consiste à prélever le matériel (salive, urine, sang capillaire au bout du doigt) à domicile, puis à envoyer ce matériel à un laboratoire qui pratique l'analyse. Pour le test effectué à domicile, il s'agit d'effectuer à domicile non seulement le prélèvement du matériel, mais aussi l'analyse sur ce matériel prélevé. Dans la phase

* En Suisse, aucun test donnant des renseignements sur les maladies transmissibles ne peut être livré au public (Ordonnance sur la protection des données personnelles, SR818.152.1).

** La sensibilité indique la proportion d'individus HIV-positifs reconnus comme tels par le test. Par ex. une sensibilité de 99,9% exprime que sur 1000 individus HIV-positifs testés, on aura 1 résultat faux-négatif.

*** La spécificité indique la proportion d'individus HIV-négatifs reconnus comme tels par le test. Par ex. une spécificité de 99,9% exprime que sur 1000 individus HIV-négatifs testés, on obtiendra 1 résultat faux-positif.

précoce, la réactivité des «hometests» sur salive ou urine est inconnue. En Suisse, les «hometests» ne sont pas encore admis; ils sont donc

illégaux et de plus leur qualité n'a pas été éprouvée [11].

Références

- 1 Gottlieb MS, Schroff R, Schanker HM, Weisman JD, Fan PT, Wolf RA, et al. Pneumocystis carinii pneumonia and mucosal candidiasis in previously healthy homosexual men: evidence of a new acquired cellular immunodeficiency. *N Engl J Med* 1981;305:1425-31.
- 2 Masur H, Michelis MA, Greene JB, Onorato I, Stouwe RA, Holzman RS, et al. An outbreak of community-acquired Pneumocystis carinii pneumonia: initial manifestation of cellular immune dysfunction. *N Engl J Med* 1981;305:1431-8.
- 3 Barre-Sinoussi F, Chermann JC, Rey F, Nugeyre MT, Chamaret S, Gruest J, et al. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science* 1983;220:868-71.
- 4 HIV-Testkonzept 1998: Neue Richtlinien. *Bulletin BAG* 1998;18:7-11.
- 5 Erb P, Matter L. HIV-Diagnostik 1998. *Therap Umschau* 1998;55:279-284.
- 6 Busch MP, Lee LL, Satten GA, Henrard DR, Farzadegan H, Nelson KE, et al. Time course of detection of viral and serologic markers preceding human immunodeficiency virus type 1 seroconversion: implications for screening of blood and tissue donors. *Transfusion* 1995;35:91-7.
- 7 Busch MP, Satten GA. Time course of viremia and antibody seroconversion following human immunodeficiency virus exposure. *Am J Med* 1997;102:117-24; discussion 125-6.
- 8 Ly TD, Edlinger C, Vabret A. Contribution of combined detection assays of p24 antigen and anti-human immunodeficiency virus (HIV) antibodies in diagnosis of primary HIV infection by routine testing. *J Clin Microbiol* 2000;38:2459-61.
- 9 Empfehlungen zur antiretroviralen HIV-Therapie 2001. *Bulletin BAG* 2000;51:994-1000.
- 10 Meldungen von Infektionskrankheiten ab 1. März 1999 neu geregelt. *Bulletin BAG* 1999;9, Suppl XIV.
- 11 Stellungnahme zum Gebrauch von Home-Tests für HIV. *Bulletin BAG* 1997;29:4-6.