

Annales du Contrôle National de Qualité des Analyses de Biologie Médicale

**Blot-VIH : Test de confirmation
de l'infection par le VIH**

Isabelle HELIAS (Afssaps)
Syria LAPERCHÉ (INTS - Paris)

Expédition : 19 novembre 2008

Clôture : 15 décembre 2008

Edition des compte-rendus individuels : 14 janvier 2009

Paramètres contrôlés : test de confirmation de l'infection par le VIH (blot-VIH)

Nombre de laboratoires concernés* : 171

Nombre de laboratoires participants** : 161

* Laboratoires ayant déclaré à l'Afssaps pratiquer les analyses concernées par l'envoi

** Laboratoires ayant retourné un bordereau-réponse correctement identifié par le code laboratoire, avant la date de clôture de l'opération

Résumé de l'opération

Le Contrôle National de Qualité Blot-VIH concerne le test de confirmation de la présence des anticorps dirigés contre les virus de l'immunodéficience humaine (VIH). Au cours de l'opération 08WBL1, 171 laboratoires ont reçu deux échantillons de plasma sous forme liquide : l'échantillon 0801, positif en anticorps anti-VIH2 (réponse attendue : « positif VIH2 » ou « suspicion VIH2 ») et l'échantillon 0802, négatif en anticorps anti-VIH1/2 (réponse attendue : « négatif »).

Il était demandé aux laboratoires de pratiquer deux tests de dépistage et un ou plusieurs tests de confirmation (Western-blot et/ou Immunoblot), la confirmation devant être réalisée quel que soit le résultat des tests de dépistage.

On note que 161 laboratoires ont renvoyé un bordereau-réponse dans les délais. Parmi eux, 12 ont déclaré ne plus effectuer cette analyse, ainsi on compte 149 laboratoires ayant rendu des résultats pour cette opération 2008.

Les résultats sont satisfaisants pour l'échantillon négatif (0802) avec 98,6% de bonnes réponses. En revanche, les laboratoires ont rencontré des difficultés pour identifier l'échantillon positif contenant des anticorps anti-VIH2 (0801) ; en effet, on note seulement 87,9% de bonnes réponses pour cet échantillon.

Dépistage des Ac anti-VIH

Echantillons 0801 et 0802

Définition des échantillons

L'échantillon 0801 a été préparé à partir d'un plasma de patient positif en anticorps anti-VIH2.

L'échantillon 0802 a été préparé à partir d'un plasma de patient négatif en anticorps anti-VIH1/2.

Les échantillons ont été testés par l'expert Syria Laperche (tableau I).

tableau I – résultats de l'expert

Echantillon	Résultats obtenus avec les différents réactifs			
	BIORAD Genscreen HIV1/2 version 2		DIASORIN anti-HIV tetra Elisa	
	Ratio	Conclusion	Ratio	Conclusion
0801	20,30	dépistage positif	11,10	dépistage positif
0802	0,66	dépistage négatif	0,17	dépistage négatif

Le dépistage des Ac anti-VIH1/2 est positif pour l'échantillon 0801 et négatif pour l'échantillon 0802.

Résultats des participants

Les résultats obtenus par les 146 laboratoires ayant donné au moins un résultat au dépistage VIH1/2 sont présentés dans le tableau II (3 laboratoires n'ont fourni aucun résultat de dépistage, un laboratoire n'a rendu le résultat que d'un seul test de dépistage pour l'échantillon 0801 et un autre laboratoire n'a rendu le résultat que d'un test de dépistage pour l'échantillon 0802).

tableau II – résultats du dépistage des anticorps anti-VIH des échantillons 0801 et 0802 (les résultats des deux tests de dépistage sont rassemblés)

Réactif	Echantillon 0801	Echantillon 0802		
	Dépistage positif*	Dépistage négatif	Dépistage douteux**	Dépistage positif***
Techniques Elisa mixtes automatisables	283	275	6	2
ABBOTT Architect HIV Combo	36	36		
ABBOTT AxSYM Ag/Ac VIH combo	30	29		
ABBOTT AxSYM HIV1/2 O	19	19		
ABBOTT HIV1/2 gO	1	1		
ABBOTT IMx HIV1/2 III Plus	1	1		
ABBOTT Murex HIV Ag/Ab combination	10	10		
ABBOTT Murex HIV1.2 O	1	1		
ABBOTT Prism HIV O Plus	3	3		
BECKMAN COULTER Access/Dxi HIV1/2 New	8	9		
BIOMERIEUX Vironostika HIV Uniform II Ag/Ab	7	7		
BIOMERIEUX Vidas HIV Duo Quick	19	19		
BIOMERIEUX Vidas HIV Duo Ultra	12	12		
BIORAD Genscreen HIV Ag-Ab Ultra	44	44		
BIORAD Genscreen HIV1/2 version 2	27	19	6	2
DIASORIN anti-HIV tetra ELISA	17	17		
DADE BEHRING Enzygnost anti-HIV1/2 plus	1	1		
DADE BEHRING Enzygnost HIV Integral II new	12	12		
INGEN Detect HIV	3	3		
ORTHO Vitros anti-VIH1+2	13	13		
ROCHE Cobas Core HIV Combi EIA	1	1		
ROCHE Elecsys/Modular HIV Combi	10	10		
SIEMENS Advia Centaur HIV	8	8		
Techniques unitaires mixtes	4	4	0	0
INVERNESS Determine HIV 1-2	3	3		
INVERNESS Immunocomb II bispot HIV1+2	1	1		
Total	287	279	6	2

* : tous les laboratoires ont trouvé un ratio > ou = 1 avec l'échantillon 0801.

** : les ratios correspondant à ces réponses sont : 0,90 - 0,92 - 0,93 - 0,97 - 1 - 1

*** : les ratios correspondant à ces réponses sont : 1,16 - 1,33

Commentaires

- Tous les tests de dépistage ont fourni un résultat positif avec l'échantillon 0801.
- En revanche, on note 6 résultats douteux et 2 résultats faussement positifs avec le réactif BIORAD Genscreen HIV1/2 version 2 sur l'échantillon négatif 0802. Les 8 ratios obtenus sur ces 8 échantillons étaient proches de 1. Dans tous les cas, le résultat du 2^{ème} test était négatif.

Blot-VIH

Echantillons 0801 et 0802

Définition des échantillons

Ces échantillons ont été testés par l'expert (tableau III et figure 1).

tableau III – résultats de l'expert

Echantillons Définition	Réactif	Résultats	Interprétation préconisée par le fabricant
0801 Positif VIH2	ABBOTT/MP HIV Blot 2.2	pepHIV2++, p18-, p24+++, p34+++, gp41-, p55+/-, p68+/-, gp120-, gp160+	suspicion VIH2
	BIORAD New Lav Blot I	p18-, p24+++, p34+++, gp41-, p55+++, p68+, gp120-, gp160-	Indéterminé
	BIORAD New Lav Blot II	p16++, p26+++, gp36+, p56+++, p68+++, gp105+++, gp140++	Positif VIH2
	ORTHO CHIRON RIBA HIV-1/2 SIA	p24/26+++, p31+++, peptHIV2+++, gp41+, gp120-	Positif VIH2
	INGEN Innolia HIV confirmation	gp36+++, sgp105+, p17+/-, p24+++, p31++, gp41-, sgp120-	Positif VIH2
0802 Négatif	ABBOTT/MP HIV Blot 2.2	Aucun signal	Négatif
	BIORAD New Lav Blot I	Aucun signal	Négatif
	BIORAD New Lav Blot II	Aucun signal	Négatif
	ORTHO CHIRON RIBA HIV-1/2 SIA	Aucun signal	Négatif
	INGEN Innolia HIV confirmation	Aucun signal	Négatif

Les conclusions de l'expert ont été les suivantes :

- Echantillon 0801 : présence d'anticorps anti-VIH2
- Echantillon 0802 : absence d'anticorps anti-VIH1/2

figure 1 : profils obtenus par l'expert avec le réactif ABBOTT/MP HIV Blot 2.2

Tester 3 aliquots de **08WBL1 - 0801 (positif HIV2)** et 3 aliquots de **08WBL1 - 0802 (absence d' Ac anti-HIV2)**.

Date : 28-29/10/08

N° Bande	Specimen	Bandes
29	CIQ : MONT/1H-1-02-01	
30	08WBL1 - 0802 Aliquot 1	
31	08WBL1 - 0802 Aliquot 2	
32	08WBL1 - 0802 Aliquot 3	
33	08WBL1 - 0801 Aliquot 1	
34	08WBL1 - 0801 Aliquot 2	
35	08WBL1 - 0801 Aliquot 3	

figure 2 : profils obtenus par l'expert avec le réactif BIORAD New Lav Blot I

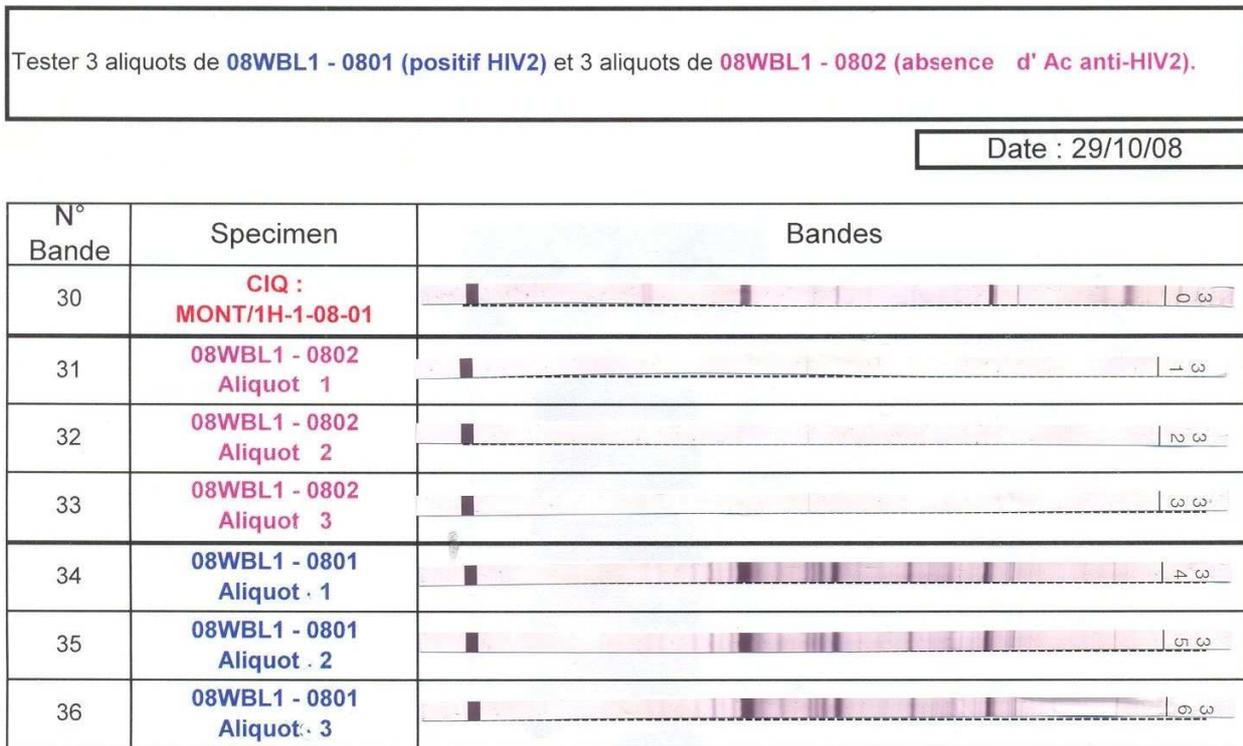
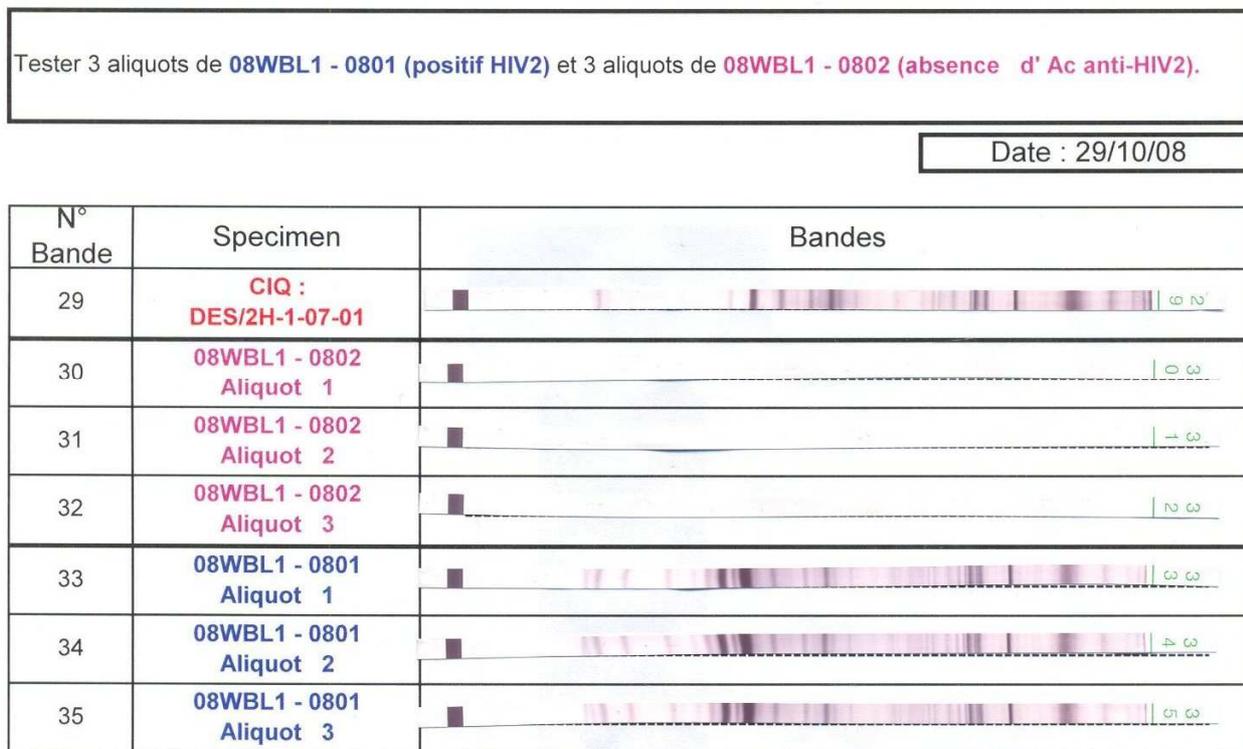


figure 3 : profils obtenus par l'expert avec le réactif BIORAD New Lav Blot II



Résultats des participants

149 laboratoires ont effectué la confirmation VIH1/2.

1 – Réactifs utilisés

Les techniques et réactifs de confirmation utilisés lors des opérations 2004, 2005, 2006, 2007 et 2008 figurent dans les tableaux IV et V. Un même laboratoire a pu rendre des résultats avec plusieurs réactifs.

tableau IV – techniques de confirmation utilisées en 2004, 2005, 2006, 2007 et 2008

Techniques utilisées	Nombre d'utilisateurs				
	2004	2005	2006	2007	2008
Western-Blot	97	98	94	94	82
Immunoblot	37	49	56	60	62
Western-Blot + Immunoblot	5	7	2	4	5
Nombre total de laboratoires	139	154	152	158	149

tableau V - réactifs de confirmation utilisés en 2004, 2005, 2006, 2007 et 2008

Réactif	Nombre d'utilisateurs				
	2004	2005	2006	2007	2008
Western-Blot	151	153	136	135	131
ABBOTT/MP HIV Blot 2.2	17	20	13	17	13
BIORAD New LAV Blot I	86	86	85	80	75
BIORAD New LAV Blot II	48	47	38	38	43
Immunoblot	42	56	59	64	67
ORTHO Chiron RIBA HIV-1/2 SIA	13	8	7	6	6
INGEN Innolia HIV confirmation	29	48	52	58	61
Nombre de laboratoires ayant utilisé au moins 2 réactifs différents	55	52	43	42	46

On constate que le nombre de laboratoires utilisant un immunoblot a augmenté, passant de 42 en 2004 (30% des participants) à 67 en 2007 (45% des participants). Cela est dû à l'augmentation des utilisateurs du réactif Ingen Innolia HIV confirmation : 29/42 immunoblots réalisés (69%) en 2004 contre 61/67 (91%) en 2008.

2- Conclusions des laboratoires

Nous rappelons que les laboratoires ne pouvaient donner qu'une seule conclusion choisie parmi une liste prédéfinie (tableau VI). Ils devaient tenir compte des résultats des tests de dépistage et des tests de confirmation. Nous constatons que 3 laboratoires ont utilisé un code conclusion ne figurant pas dans cette liste ; ils ont utilisé un code conclusion correspondant au dépistage : « POS » (dépistage positif). Le code « XXE » correspondant à « code conclusion erroné » leur a donc été attribué.

Les conclusions des laboratoires sont présentées dans le tableau VII.

tableau VI – conclusions proposées sur le bordereau-réponse

Code conclusion	Conclusion
SC1	Séroconversion probable VIH1
PO1	Positif VIH1
SC2	Séroconversion probable VIH2
PO2	Positif VIH2
SU2	Suspicion infection VIH2
P12	Positif VIH1 et VIH2
S12	Suspicion infections VIH1 et VIH2
NEG	Négatif

tableau VII - conclusions des laboratoires

Echantillon	Conclusions des laboratoires	Nombre de laboratoires
0801	Positif VIH2 (PO2)	99
	Suspicion VIH2 (SU2)	32
	Suspicion infections VIH1 et VIH2 (S12)	1
	Positif VIH1 et VIH2 (P12)	4
	Positif VIH1 (PO1)	8
	Séroconversion probable VIH1 (SC1)	2
	Code conclusion erroné ou absence de conclusion (XXE/XXA)	3
	Total	149
0802	Négatif (NEG)	147
	A contrôler (CTR)	1
	XXA	1
	Total	149

Les cellules grisées correspondent aux conclusions acceptables.

3- Résultats obtenus par les laboratoires sur les différentes protéines du VIH1 et 2 en fonction des réactifs utilisés

Les résultats obtenus par les laboratoires sur les différentes protéines du VIH1 et du VIH2 sont présentés dans les tableaux VIII à XII en fonction des réactifs utilisés. Pour chaque protéine, figure la réponse donnée par la majorité des laboratoires.

tableau VIII - résultats obtenus avec le réactif Abbott/MP HIV Blot 2.2 (Western-blot VIH1 avec peptide VIH2)

Echantillon	pepVIH2	p18	p24	p34	gp41	p55	p68	gp120	gp160
0801	+ (13/13)	- (12/13)	+ (12/13)	+ (11/13)	- (9/13)	+ (7/13)	+ (9/13)	+ (11/13)	+ (7/13)
0802	- (12/13)	- (13/13)							

tableau IX - résultats obtenus avec le réactif Biorad New LAV Blot I (Western-blot VIH1)

Echantillon	p18	p24	p34	gp41	p55	p68	gp120	gp160
0801	- (47/73)	+ (73/73)	+ (71/73)	+ (39/73)	+ (73/73)	+ (70/73)	- (63/73)	- (67/73)
0802	- (70/74)	- (72/74)	- (74/74)	- (74/74)	- (74/74)	- (74/74)	- (74/74)	- (74/74)

tableau X - résultats obtenus avec le réactif Biorad New LAV Blot II (Western-blot VIH2)

Echantillon	p16	p26	gp36	p56	p68	gp105	gp140
0801	+ (41/43)	+ (43/43)	+ (43/43)	+ (43/43)	+ (43/43)	+ (43/43)	+ (43/43)
0802	- (35/36)	- (35/36)	- (36/36)	- (36/36)	- (36/36)	- (35/36)	- (36/36)

tableau XI - résultats obtenus avec le réactif Ortho Chiron RIBA HIV1/HIV2 SIA (Immunoblot)

Echantillon	p24	p31	pepHIV2	gp41	gp120
0801	+ (6/6)	+ (6/6)	+ (6/6)	+ (6/6)	- (6/6)
0802	- (6/6)	- (6/6)	- (6/6)	- (6/6)	- (6/6)

tableau XII - résultats obtenus avec le réactif Ingen Innolia HIV confirmation (Immunoblot)

Echantillon	gp36	Sgp105	p17	p24	p31	gp41	sgp120
0801	+ (60/61)	+ (53/61)	+ (58/61)	+ (61/61)	+ (61/61)	- (61/61)	- (61/61)
0802	- (59/60)	- (60/60)	- (60/60)	- (59/60)	- (60/60)	- (60/60)	- (60/60)

4 – Conclusions des laboratoires en fonction des réactifs utilisés

4-1 Echantillon 0801

Les conclusions données par les laboratoires pour l'échantillon 0801 sont présentées dans le tableau XIII en fonction des réactifs utilisés.

tableau XIII - conclusions des laboratoires en fonction des réactifs utilisés : Echantillon 0801

Conclusion	Nombre de labos	Réactif 1	Réactif 2	Réactif 3	Réactif 4
Positif VIH2	3	Abbott/MP HIV Blot 2.2	-	-	-
	1	Abbott/MP HIV Blot 2.2	Biorad New LAV blot I	-	-
	2	Abbott/MP HIV Blot 2.2	Biorad New LAV blot II	-	-
	1	Abbott/MP HIV Blot 2.2	Ingen Innolia HIV confirmation	-	-
	1	Abbott/MP HIV Blot 2.2	Biorad New LAV blot I	Biorad New LAV blot II	Ortho Chiron Riba HIV-1/HIV-2
	33	Biorad New LAV blot I	Biorad New LAV blot II	-	-
	1	Biorad New LAV blot I	Ingen Innolia HIV confirmation	-	-
	1	Biorad New LAV blot I	Biorad New LAV blot II	Ingen Innolia HIV confirmation	-
	1	Biorad New LAV blot II	Ingen Innolia HIV confirmation	-	-
	5	Ortho Chiron Riba HIV-1/HIV-2	-	-	-
	50	Ingen Innolia HIV confirmation	-	-	-
Suspicion VIH2	3	Abbott/MP HIV Blot 2.2	-	-	-
	23	Biorad New LAV blot I	-	-	-
	1	Biorad New LAV blot I	Biorad New LAV blot II	-	-
	5	Ingen Innolia HIV confirmation	-	-	-
Positif VIH1 et VIH2	1	Abbott/MP HIV Blot 2.2	-	-	-
	2	Biorad New LAV blot I	Biorad New LAV blot II	-	-
	1	Ingen Innolia HIV confirmation	-	-	-
Suspicion VIH1 et VIH2	1	Ingen Innolia HIV confirmation	-	-	-
Positif VIH1	8	Biorad New LAV blot I	-	-	-
Séroconversion probable VIH1	2	Biorad New LAV blot I	-	-	-
Code conclusion erroné	1	Biorad New LAV blot II	-	-	-
Absence de conclusion	1	Abbott/MP HIV Blot 2.2	Biorad New LAV blot II	-	-
	1	Biorad New LAV blot I	-	-	-
Total	149				

Les conclusions apparaissant en gras correspondent aux réponses acceptables

Les profils des 18 laboratoires n'ayant pas fourni la réponse attendue pour l'échantillon 0801 sont présentés dans le tableau XIV.

tableau XIV – Profils rendus par les 18 laboratoires ayant mal conclu sur l'échantillon 0801

Laboratoire	Conclusion	Abbott/MP HIV Blot 2.2	Biorad New LAV blot I	Biorad New LAV blot II	Ingen Innolia HIV confirmation
Labo1	P12	pepHIV2+, p18-, p24+, p34+, gp41-, p55+/-, p68-, gp120-, gp160-			
Labo2	P12		p18+, p24+, p34+, gp41+, p55+, p68+, gp120+, gp160+	p16+, p26+, gp36+, p56+, p68+, gp105+, gp140+	
Labo3	P12		p18+, p24+, p34+, gp41-, p55+, p68+, gp120-, gp160-	p16+, p26+, gp36+, p56+, p68+, gp105+, gp140+	
Labo4	P12				gp36+, sgp105+, p17+, p24+, p31+, gp41+, sgp120+
Labo5	S12				gp36+, sgp105+/-, p17+/-, p24+, p31+, gp41-, sgp120-
Labo6 labo7	PO1		p18+, p24+, p34+, gp41+, p55+, p68+, gp120-, gp160-		
Labo8 Labo9	PO1		p18+, p24+, p34+, gp41+, p55+, p68+, gp120+, gp160+		
Labo10 Labo11 Labo12	PO1		p18-, p24+, p34+, gp41+, p55+, p68+, gp120-, gp160-		
Labo13	PO1		p18+, p24+, p34+, gp41+, p55+, p68+, gp120+, gp160-		
Labo14	SC1		p18-, p24+, p34+, gp41+, p55+, p68+, gp120-, gp160-		
Labo15	SC1		p18-, p24+, p34+, gp41-, p55+, p68+, gp120-, gp160-		
Labo16	XXE			p16+, p26+, gp36+, p56+, p68+, gp105+, gp140+	
Labo17	XXA	pepHIV2+, p18-, p24+, p34-, gp41+, p55+, p68+, gp120-, gp160+		p16+, p26+, gp36+, p56+, p68+, gp105+, gp140+	
Labo18	XXA		p18-, p24+, p34+, gp41+, p55+, p68+, gp120-, gp160-		

(**SC1** = séroconversion probable VIH1 ; **P12** = positif VIH1 et VIH2 ; **S12** = suspicion infections VIH1 et VIH2 ; **PO1** = positif VIH1 ; **PO2** = positif VIH2 ; **XXA** = absence de conclusion ; **XXE** = code conclusion erroné, ces laboratoires ont utilisé une conclusion destinée au dépistage VIH1/2 « POS »)

On compte 131 (87,9%) laboratoires ayant fourni une réponse acceptable, c'est-à-dire « Positif VIH2 » ou « Suspicion VIH2 » pour l'échantillon 0801. Même s'il est meilleur que celui obtenu en 2003 (81,2%) avec un échantillon similaire, ce pourcentage de bonnes réponses reste insuffisant.

Les 18 laboratoires n'ayant pas fourni la réponse attendue se répartissent en 2 groupes :

- le 1^{er} groupe comprenant 4 laboratoires qui ont fourni une réponse acceptable au vu des profils obtenus, mais qui n'étaient pas ceux attendus.
- le second groupe comprenant 14 laboratoires qui auraient pu conclure à la présence, ou à une suspicion de présence d'anticorps anti-VIH2 compte-tenu des profils obtenus. Les 2 laboratoires ayant utilisé le western-blot 2.2 de la société Abbott comportant le peptide VIH2 auraient pu conclure à une suspicion de VIH2. Les laboratoires ayant utilisé le western-blot Biorad ont obtenu des profils évocateurs de VIH2 dans la mesure où il existait un déséquilibre entre les réactions observées sur les protéines d'enveloppe du VIH1 (ici le plus souvent négatives, plus rarement très faibles) et sur les protéines de GAG et POL.

Le pourcentage élevé de réponses erronées ne met pas en cause la qualité des réactifs puisqu'il est principalement lié à des erreurs d'interprétation.

L'utilisation du western-blot de la société Abbott a l'avantage de pouvoir indiquer la présence d'anticorps anti-VIH2 grâce à la positivité sur le peptide VIH2. Toutefois, il faut confirmer cette positivité avec un test spécifique VIH2 (Biorad New LAV blot II ou un immunoblot).

En ce qui concerne le réactif Biorad New LAV Blot I, c'est, classiquement, le déséquilibre entre les intensités plus faibles sur les protéines d'enveloppe VIH1 et celles observées sur les protéines de capsid (en particulier, p24 et p34) plus fortes, qui doit faire rechercher la présence d'anticorps anti-VIH2.

Les immunoblots présentent moins de risques d'erreurs d'interprétation.

4-2 Echantillon 0802

Seuls deux laboratoires n'ont pas conclu négatif en anticorps anti-VIH-1 et VIH-2 pour cet échantillon. Le laboratoire ayant rendu « à contrôler » avait trouvé un dépistage positif sur un des deux tests réalisés, mais un western-blot VIH-1 négatif.

Le second laboratoire n'ayant pas reporté sa conclusion sur le bordereau-réponse n'avait trouvé de positivité ni en dépistage ni en confirmation.

Conclusion

Les résultats de cette opération du Contrôle National de Qualité Blot-VIH montrent que sur les 149 laboratoires ayant rendu des résultats, près de 88% ont fourni des réponses acceptables (131/149) pour l'échantillon positif VIH2 (0801) et près de 99% (147/149) pour l'échantillon négatif (0802).

Le faible pourcentage de bonnes réponses, concernant l'échantillon 0801, ne met pas en cause la qualité des réactifs, puisqu'il a été relevé majoritairement des erreurs d'interprétation.

Rappelons que les recommandations de la Haute Autorité de Santé (1) concernant la stratégie de diagnostic de l'infection à VIH, émises en octobre 2008 insistent sur la nécessité de différencier l'infection à VIH1 de celle à VIH2 dès le premier prélèvement. Même si les infections à VIH2 ne représentent que 2% des infections à VIH en France, il convient de ne pas ignorer leur existence et de savoir les identifier.

(1)http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2008-10/recommandations_-_depistage_de_linfection_par_le_vih_en_france_-_modalites_de_realisation_des_tests_de_depistage_2008-10-22_11-55-8_316.pdfHAS