

**ATELIER DE VIROLOGIE**  
**29/09/2017**

# Charges virales VIH / VHB / VHC

Nadia MAHJOUR  
Laboratoire de Virologie  
Hôpital Saint-Louis PARIS





## Plan de la présentation

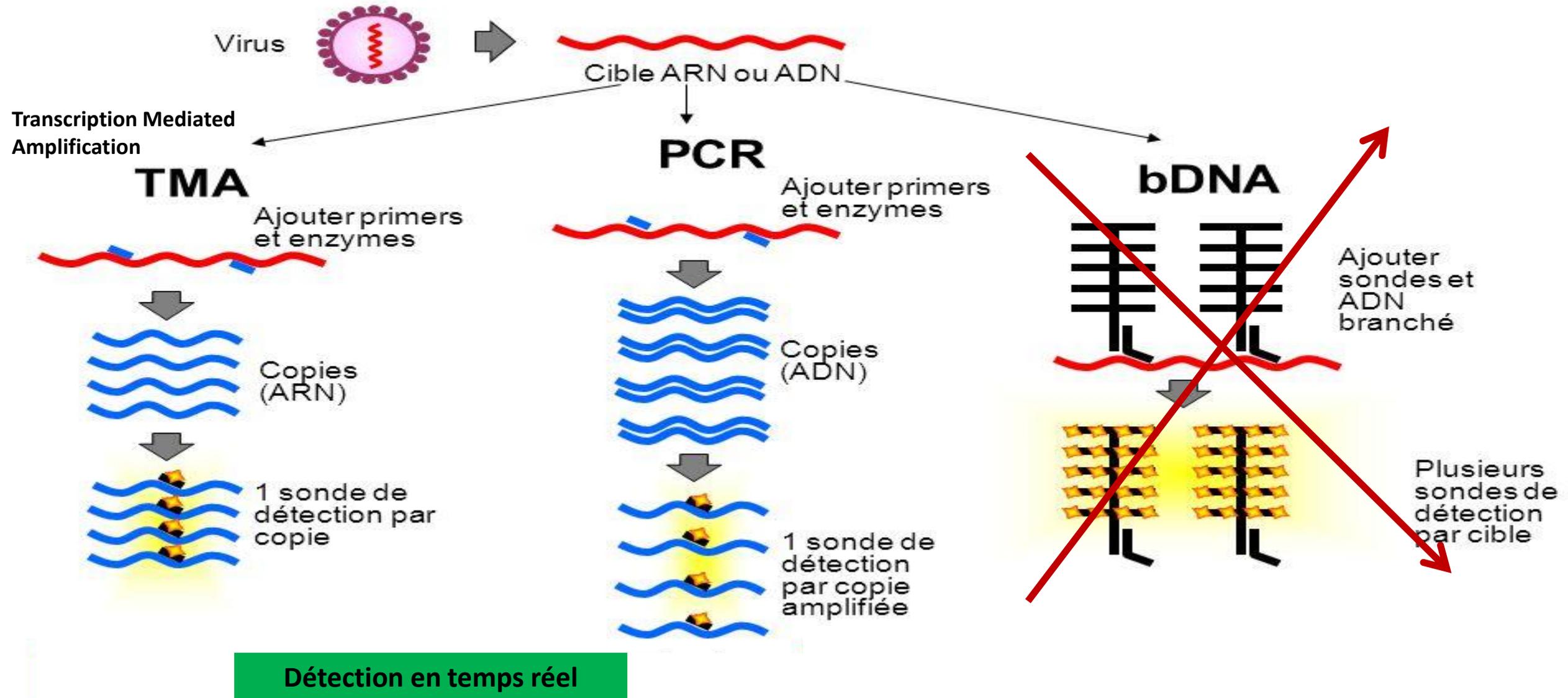
- **Définition**
- **Automates et trousse de charges virales utilisés en France**
- **POCT (Point Of Care Test) : Tests Cepheid**
- **Intérêt et applications**
- **Particularités et pièges**



## Définition

- Charge virale (CV) = quantification du génome viral  
**(ARN VIH-1, ARN VHC et ADN VHB)**
- Déterminée par des techniques de biologie moléculaire commercialisées (RT-PCR, TMA...).
- Utilisation en routine :
  - > Suivi virologique d'infection par le VIH, le VHB ou le VHC
  - > Suivi du traitement antiviral

# Techniques de quantification virale





## Trousses de charges virales utilisées en France

- **Techniques basées sur la PCR en temps réel**

- Cobas Ampliprep Cobas Taqman (CAP/CTM) Test v 2.0 HIV-1, HCV et HBV (**Roche**)
- Cobas 6800/8800 System HIV-1, HCV et HBV (**Roche**) depuis 2016
- RealTime HIV-1, HBV et HCV (**Abbott**)
- Versant HIV-1, HCV RNA Assay (**Siemens**)
- Artus HCV QS-RGQ Assay (**Qiagen**)

- **Techniques basées sur la TMA en temps réel**

- Aptima HIV-1, HCV, HBV Quant Dx Assay (**Hologic**)

## Automates de charges virales disponibles en France

Les 2 systèmes les plus utilisés dans les laboratoires à haut débit en France sont les chaînes Roche et Abbott.



**Cobas® Ampliprep Cobas® Taqman (Roche)**



**Real time  
m2000sp-m2000rt  
(Abbott)**

### Caractéristiques

- PCR en temps réel
- Performances comparables (VIH, VHB, VHC)
- Séries 24/48/96 échantillons en 6h
- Pas de passage de tube primaire -> Décantation préalable
- Systèmes d'extraction et d'amplification séparés

=> **Expérience requise**

**Maintenance ++**

**Hotline ++**

# Systemes entierement automatises sur tube primaire



**Cobas® 6800 System (Roche)**



**Cobas® 8800 System (Roche)**

## Caracteristiques

- Systemes entierement automatises de l'extraction jusqu'à la detection
- Intervention manuelle tres reduite
- Cobas 6800 : passage par series + " **Créneau d'urgence** "
- Panther : **Random access**
- Temps d'analyse reduit, debit eleve (Cobas 6800 : Débit max **384 tests/8h**, 96 premiers tests en <3.5 h)

=> **Expérience, Maintenance ++ Hotline ++**



**Panther® (Hologic)**

## Tests unitaires à la demande (POCT) : Tests Cepheid (1)

- **GeneXpert** : Automates installés dans certains laboratoires hospitaliers, laboratoires de ville (diagnostic grippe/VRS, entérovirus, VIH-1, VHC)  
→ Suivi de files actives de patients, dans le cadre des dons d'organes, d'accident d'exposition au sang.

### • Xpert® HIV-1 Qual (Dépistage)

- Utilisation dans les pays du sud  
→ Diagnostic de **bébés** nés de mères séropositives.
- Pas encore utilisé en France
- Evaluation au labo de viro de Saint-Louis sur 59 échantillons VIH+ avec un large panel de CV  
→ **Bonne sensibilité qd CV>200 cp/mL** (*Gabassi et al, poster MOPEB0265 IAS 2017* )

### • Xpert® HIV-1 Viral Load

Bonne corrélation avec le test HIV-1 RealTime (**Abbott**) (*Kulkarni et al, BMC Infectious Diseases, 2017*) et le test CAP/CTM HIV-1 v2.0 (**Roche**) (*B.Avidor et al, Journal of Clinical Virology, 2017*)

### • Xpert® HCV Viral Load

Bonne corrélation avec le test HCV RealTime (**Abbott**) (*E.Gupta et al. Journal of Clinical Virology 2017*)

# Tests unitaires à la demande (POCT) : Tests Cepheid (2)

Extraction + Amplification + Détection intégrées dans un même système => **Cassette**

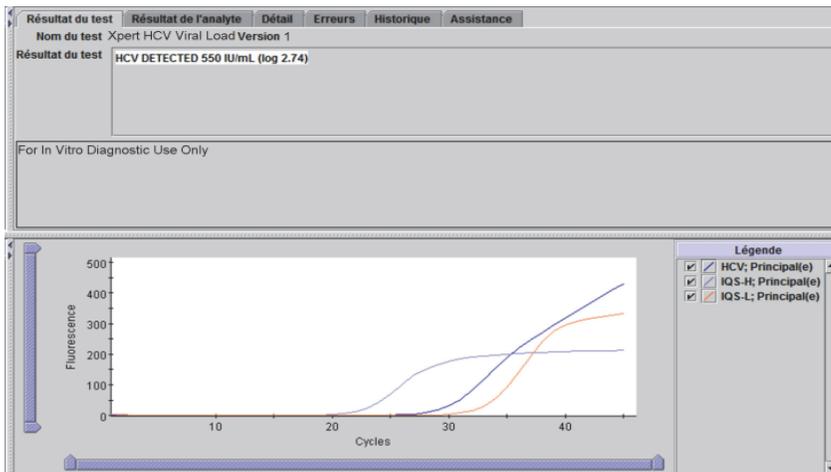
**Plasma EDTA**  
Quantification  
VIH-1 et VHC



Volume = **1 mL**



Durée du test **env 2h**



**Résultat rapide**

VIH-1 : qualitatif ou quantitatif (40-10<sup>7</sup> copies /mL)

VHC : quantitatif (10-10<sup>8</sup> )UI/mL



## Tests unitaires à la demande (POCT) : Tests Cepheid (3)

### Avantages

- Excellentes performances
- Rapidité d'obtention des résultats
- Simplicité d'utilisation
- Flexibilité
- Robustesse du système
- Maintenance réduite (interne 1/mois env 30 min, externe 1/an env 2h)
- Risque de contamination faible
- Accréditation simplifiée (Marquage CE)

⇒ **Possibilité d'utilisation dans des laboratoires à faible débit**

### Inconvénients

- Coût ++ (Env 40 euros le test)

## Caractéristiques des trousse de quantification de l'ARN VIH-1

	RealTime HIV (Abbott)	CAP/CTM* HIV 2.0 (Roche)	Cobas® HIV 6800/8800 (Roche)	Xpert® HIV (Cepheid)	Aptima® HIV Quant Dx (Hologic)
Principe	PCR temps réel				TMA temps réel
Cible	POL	GAG + LTR		LTR	POL + LTR
Prise d'essai (µL)	1000	1000	650 ou 350 (Canal 500 ou 200)	1000	700
Matrice biologique	Plasma				
Procédure extraction	Automatisée				
Intervalle de quantification (Cp/mL)	<b>40-10<sup>7</sup></b>	<b>20-10<sup>8</sup></b>	<b>20-10<sup>8</sup></b> <b>50-10<sup>8</sup></b>	<b>40-10<sup>7</sup></b>	<b>30-10<sup>7</sup></b>
LOD (Cp/mL)	12.1	16.5	13.2	18.3	12
Traitement instantané des échantillons	NON	NON	OUI	OUI	OUI

\* CAP/CTM : CobasAmpliPrep/CobasTaqMan

## Caractéristiques des trousse de quantification de l'ADN VHB

	RealTime HBV (Abbott)	CAP/CTM HBV 2.0 (Roche)	Cobas® HBV 6800/8800 (Roche)	APTIMA® HBV Quant Dx (Hologic)
Principe	PCR temps réel			TMA temps réel
Cible	Gène de surface S	Gènes core et pré-core		Gène de surface S + Gène de polymérase
Prise d'essai (µL)	1000	650	650 ou 350 (Canal 500 ou 200)	500
Matrice biologique	Plasma/Sérum			
Procédure d'extraction	Automatisée			
Intervalle de quantification (UI/mL)	10-10 <sup>9</sup>	20-1,7.10 <sup>8</sup>	10-10 <sup>9</sup> 25-10 <sup>9</sup>	10-10 <sup>9</sup>
LOD plasma (UI/mL)	6.4	9	3	5.6
Traitement instantané des échantillons	NON	NON	OUI	OUI

## Caractéristiques des trousse de quantification de l'ARN VHC

	RealTime HCV (Abbott)	CAP/CTM HCV 2.0 (Roche)	Cobas® HCV 6800/8800 (Roche)	Xpert® HCV (Cepheid)	APTIMA® HCV Quant Dx (Hologic)
Principe	PCR temps réel				TMA temps réel
Cible	5'UTR				
Prise d'essai (µL)	500	650	650 ou 350 (Canal 500 ou 200)	1000	500
Matrice biologique	Plasma/Sérum				
Procédure d'extraction	Automatisée				
Intervalle de quantification (UI/mL)	12-10 <sup>8</sup>	15-10 <sup>8</sup>	15-10 <sup>8</sup> 40-10 <sup>8</sup>	10-10 <sup>8</sup>	10-10 <sup>8</sup>
LOD plasma (UI/mL)	10.5	9.3	8.46	4	4.3
Traitement instantané des échantillons	NON	NON	OUI	OUI	OUI



## Intérêt et applications : CV VIH (1)

- Marqueur **le plus précoce** détectable **8 à 17** j après le contage
  - Diagnostic de **primo-infection +++**
- Sensibilité et spécificité proche de 100%
- Au moment du pic :  $10^2$  à  $10^7$  copies/mL de plasma
- **Confirmation du diagnostic**
- **Caractère prédictif de la vitesse d'évolution vers le SIDA**
- Obstacle : **Diversité** génétique
- Une différence de charge virale entre deux prélèvements n'est significative qu'au-delà de **0,5log** copies/ml

## Intérêt et applications : CV VIH (2)

- **Evaluation de l'efficacité du traitement (Rapport Morlat 2016)**

- **M1** : CV doit avoir baissé d'au moins **2 log** copies/ml
- **M3** : CV doit être **< 400** copies/ml
- **M6** : CV doit être **< 50** copies/ml.

- **Détection des échappements**



- Echec virologique = **CV > 50 cp/mL** confirmé sur **2 prélèvements consécutifs** > **6 mois** de l'initiation du TTT

→ Risque : ↘ CD4 , rebond ultérieur, Accumulation de R  
↗ Transmission + transmission virus-R

- Blips = **CV < 1000 cp/mL puis < 50 c/mL au contrôle (dans les 4 semaines après)**

Baisse d'observance, interactions médicamenteuses, vaccination, infection intercurrente

→ **Pas de conséquence (sur CD4, risque échec à 5 ans) , pas d'intervention**



## Intérêt et applications : CV VHB

- **Confirmation du diagnostic HBV chronique**
- Paramètre important dans **la décision d'initier un traitement (Seuil : 2000 UI/mL)**
- **Suivi et évaluation de l'efficacité du traitement**
- **Surveillance régulière des porteurs inactifs** (*Guidelines EASL 2017*)
- **Mise en évidence d'HBV occultes (Ag HBs – ADN VHB +)**
- **Marqueur prédictif de CHC** (*Lee MH, et al. Hepatology, 2013*)



## Intérêt et applications : CV VHC

- Marqueur le plus précoce détectable env **15j** après le contage
- **Diagnostic de l'infection aigue** précoce devant tout contexte à risque
- **Confirmation du diagnostic HCV chronique**
- Décision **d'initier un traitement** en association avec d'autres paramètres (histologiques, biochimiques et cliniques)
- **Marqueur de guérison** (RVS 12S/24S après arrêt des antiviraux)
- **Marqueur de surinfection** : Réinfection post-RVS par un nouveau virus (*Simmons et al, CID 2016*)



## Particularités et pièges

### Cas des CV spontanément indétectables lors d'une découverte d'infection par le VIH-1

- **Hypothèse 1:** défaut de la technique, **variant rare** (ex : VIH-2)  
non quantifiable par les techniques commerciales actuelles  
→ Y penser devant une chute inexpiquée des CD4 et /ou des symptômes
- **Hypothèse 2:** Patients contrôlant spontanément leur réplication virale,  
Rôle +++ de l'immunité « **Elite Controllers** » (<1% des patients VIH)
- **Hypothèse 3:** Prise non déclarée d'antirétroviraux  
→ Penser à demander **un dosage** d'ARV