

ANRS AC11/AC12 Groupe Quantification VIH

JC PLANTIER et C ROUZIOUX

Merci à JM SEIGNEURIN

Composition du groupe

AC11

I Garrigue (**Bordeaux**)

A Vabret (**Caen**)

P Morand (**Grenoble**)

P Colson, C Tamalet (**Marseille**)

F Damond, D Descamps (**Bichat, Paris**)

A Ganon, V Avettand, C Rouzioux (**Necker, Paris**)

B Amellal (**Pitié-Salpêtrière, Paris**)

O Guisthau, A Ruffault (**Rennes**)

M Gueudin, JC Plantier (**Rouen**)

K Sauné (**Toulouse**)

AC12

F Rouet (**Burkina Faso**)

E Nerrienet (**Cambodge**)

D Rousset, A Akhokeng (**Cameroun**)

D Joulia (**Côte d'Ivoire**)

C T Kane (**Sénégal**)

M Lien (**Vietnam**)

M Peeters, P Van de Perre (**Montpellier**)

E Menu (**I Pasteur**)

JC Plantier (**Rouen**)

C Rouzioux (**Necker, Paris**)

Activités

- **détection/quantification de l'ARN VIH plasmatique**
 - **test "générique" ANRS** pour essais et études menés sur sites ANRS
 - **évaluation** des techniques commerciales
 - impact de la **diversité génétique** des VIH-1 / élaboration d'un **panel** indépendant
 - technique alternative sur **buvards**

- **détection/quantification de l'ADN VIH intracellulaire**
 - test de **diagnostic** de l'infection **chez l'enfant**
 - technique alternative sur **buvards**
 - quantification des "**cellules réservoirs**"

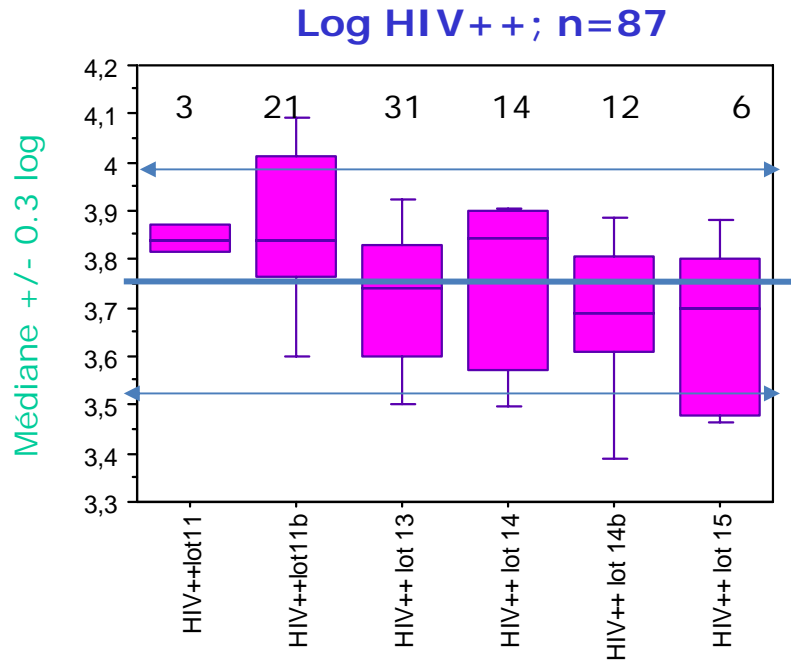
Détection/Quantification de l'ARN VIH-1

Développement du test "générique" ARN VIH-1

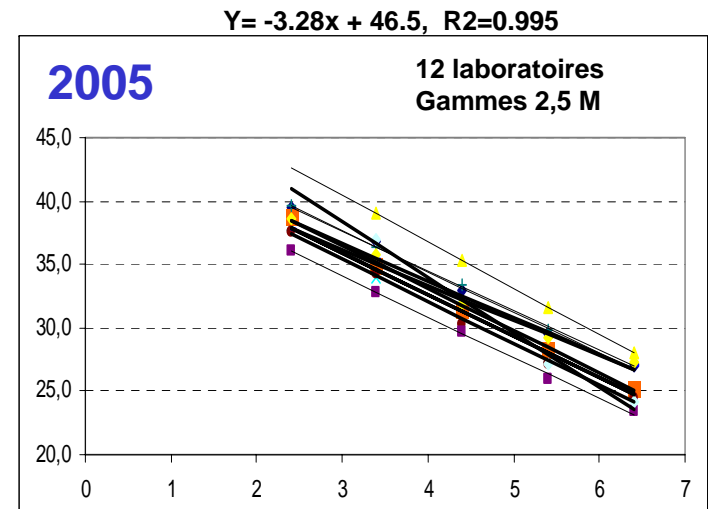
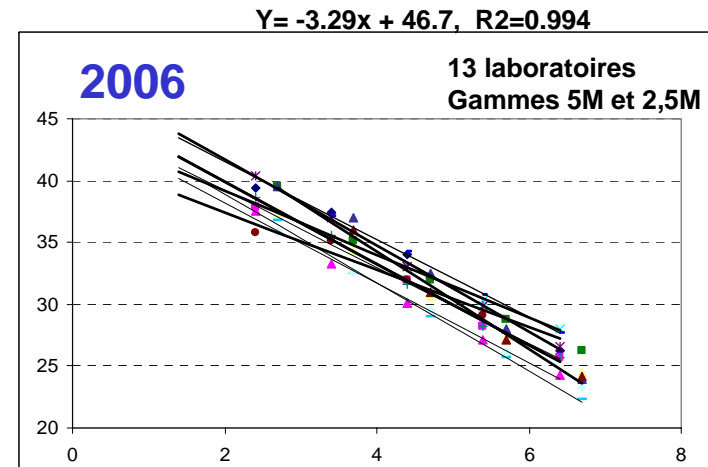
- test de PCR temps réel (LTR)
- commercialisé par Biocentric (8 €)
- visibilité nationale et internationale : positionnement du test : académique de référence (21 publications)
- implantation en routine sur sites Sud ANRS (Côte d'Ivoire, Cambodge, Vietnam, Burkina Faso, Cameroun, Gabon, Congo).
- évaluation du suivi de qualité des lots sur les sites (après validation et libération par Necker)
 - **Témoin HIV++**
 - **Contrôle de Qualité**



Suivi du Témoin HIV++ & CQ



Reproductibilité du témoin HIV++
correcte: variabilité par rapport à
3.7 log < +/-0.3 log



=> CQ entre 2005 et 2006 très reproductibles

Évaluation des techniques / diversité

Diversité génétique VIH-1 :

Échantillons cliniques (France et Afrique sub-saharienne)

Panel ANRS (surnageants de différents sous-types circulant en France et au sud)

Techniques :

Roche Cobas Taqman
Abbott HIV-1 RealTime
Biocentric Generic HIV

Rouet et coll., J AIDS 2007 (recrutement multicentrique)

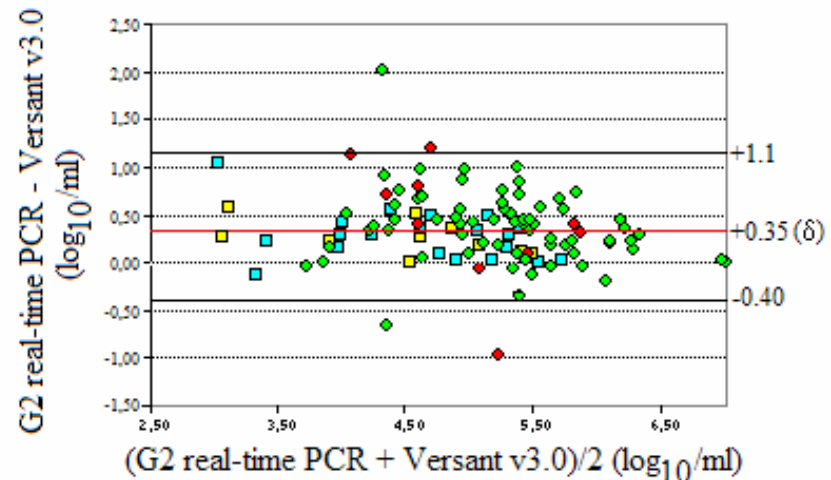
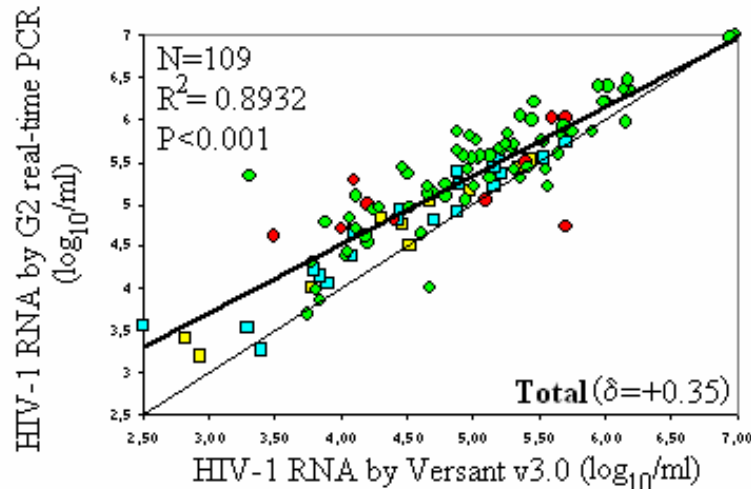
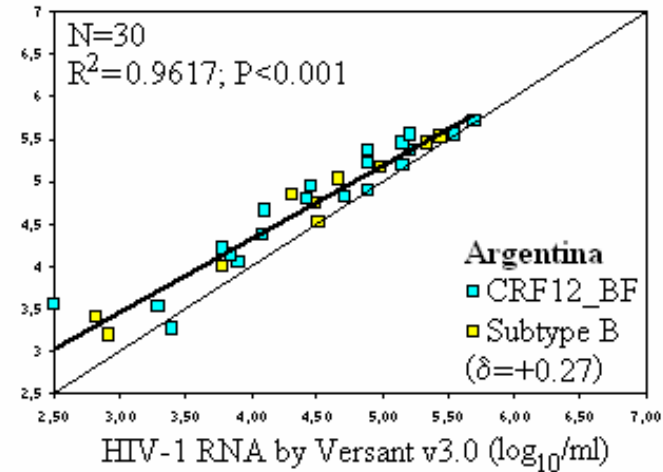
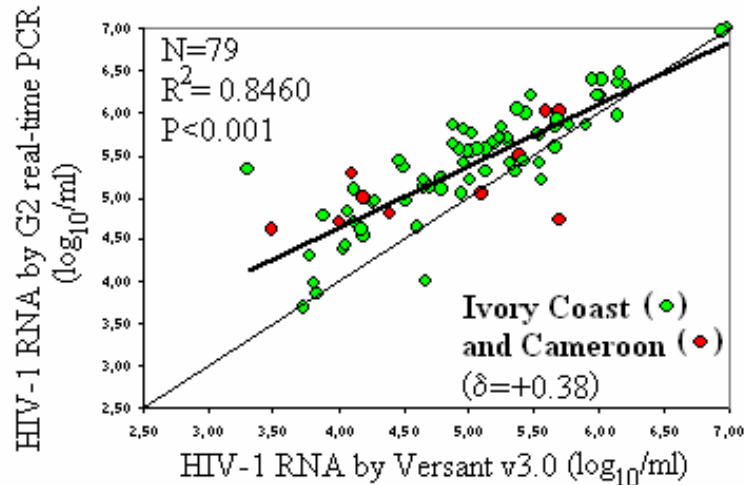
Gueudin et coll., J AIDS 2007 (recrutement multicentrique)

Damond et coll., J Clin Microbiol 2007 (recrutement monocentrique)

Colson et coll., J Clin Virol 2007 (recrutement monocentrique)

Wirlden et coll., CROI 2008

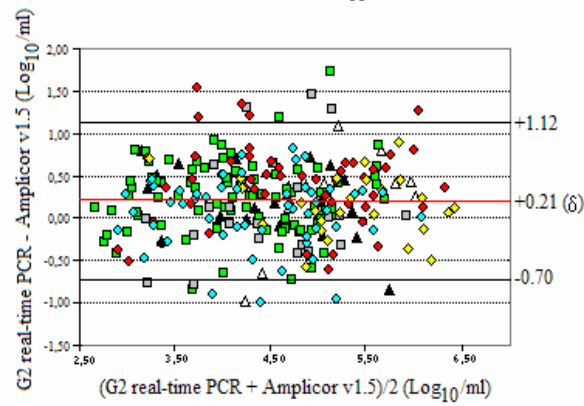
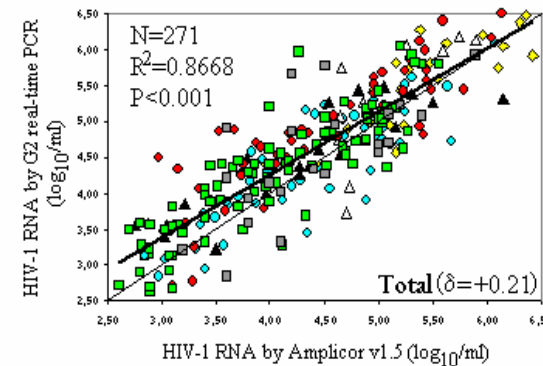
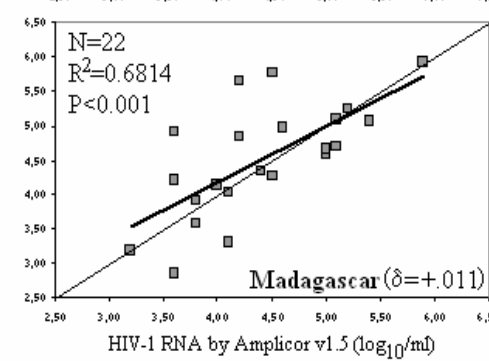
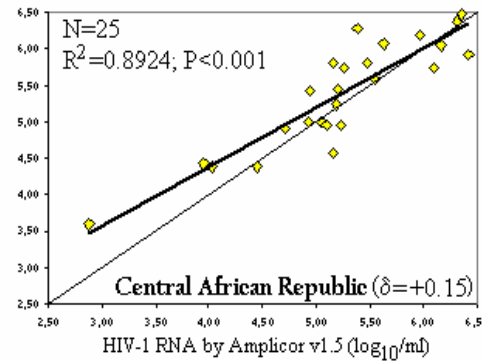
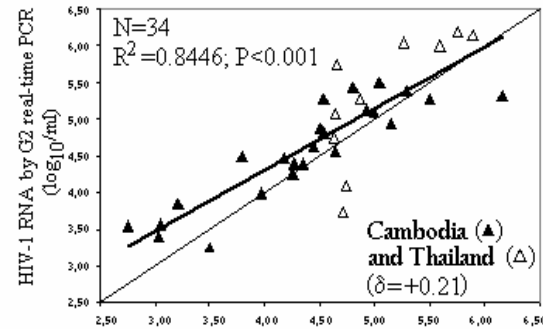
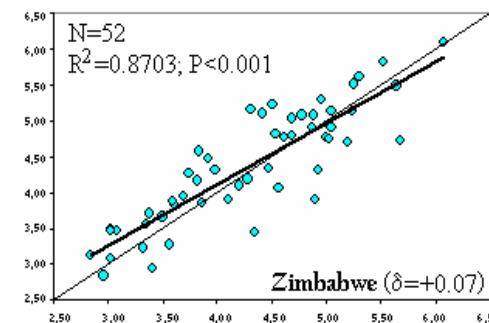
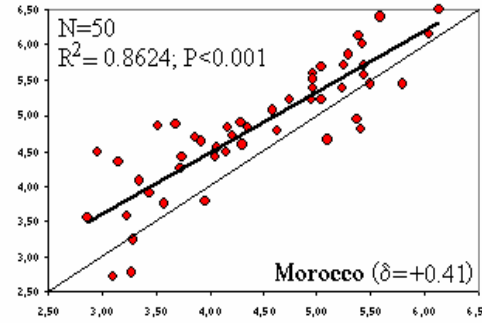
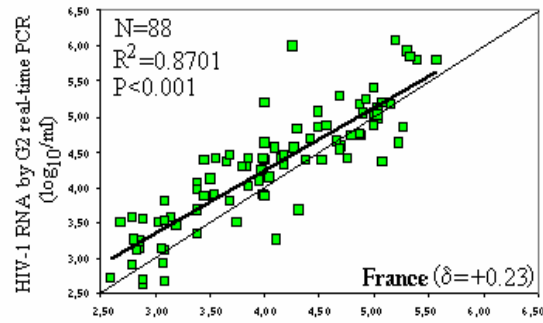
Biocentric vs bDNA Bayer *(Rouet J AIDS 2007)*



- différence de +0,35 Log en faveur de Biocentric
- discordances > 1 Log indépendantes sous-types

Biocentric vs Roche Cobas Monitor

(Rouet J AIDS 2007)



- différence +0,21 Log et discordances >1 Log en faveur de Biocentric
- technique Biocentric adaptée à diversité génétique

Comparaison des techniques Roche Cobas Monitor, Cobas Taqman & Abbott RealTime

Damond J Clin Microbiol 2007, Roche Taqman vs Roche Monitor

Gueudin J AIDS 2007 Roche Taqman vs Roche Monitor vs Abbott RealTime

Colson J Clin Virol 2007 Roche Taqman vs LTR in house & LCx Abbott

Sous-quantification de la technique **Roche Taqman** (25% des cas > 0,5 Log / Roche Monitor)

Sous-quantification > **1 Log** pour quelques échantillons **indépendante de sous-types**

Wirten CROI 2008 Roche Taqman vs Abbott RealTime

- sous-quantification **CRF02** par **Abbott**
- autres non-B: différences non liées à techniques en particulier
- différences > **1 Log en faveur de Abbott**

Élaboration d'un panel ANRS

Panel ANRS (surnageant de différents sous-types circulant en France et au Sud) : Bichat, Necker, Rouen, Rennes, Cambodge, Cameroun

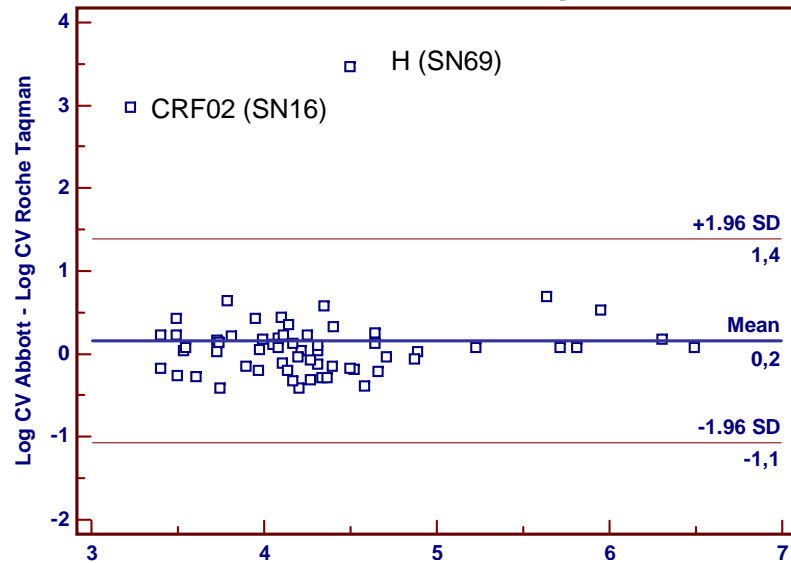
Techniques en cours d'évaluation

**Roche Cobas Taqman
Abbott HIV-1 RealTime
Biocentric Generic HIV**

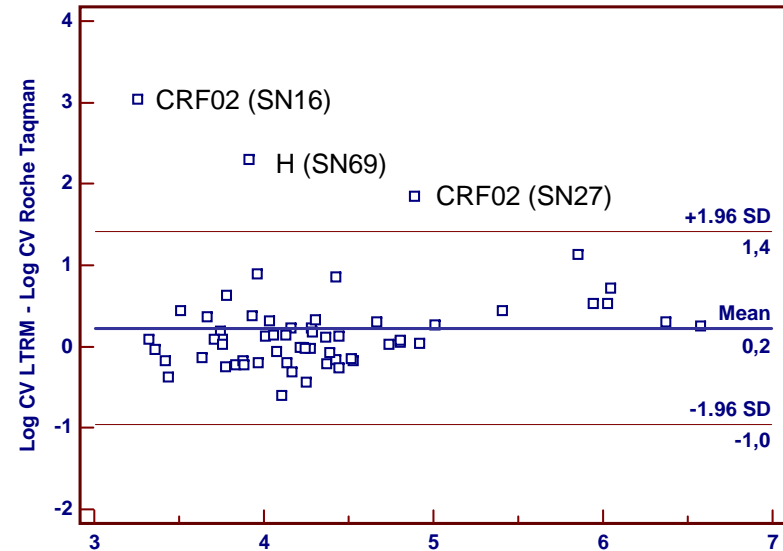
N = 80 surnageants actuellement

7 A	6 CRF01_AE
17 B	16 CRF02_AG
2 C	1 CRF05_DF
5 D	3 CRF06_cpx
5 F	2 CRF11_cpx
4 G	
2 H	8 groupe O
2 J	

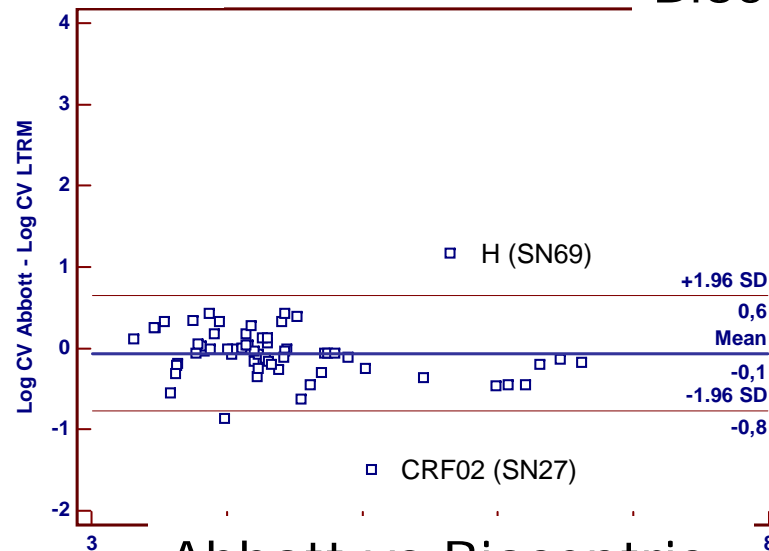
Comparaison des techniques Biocentric, Cobas Taqman & Abbott RealTime



Abbott vs Roche



Biocentric vs Roche



Abbott vs Biocentric

N = 61

Technique alternative sur buvard

étude de faisabilité de la **CV** sur buvards
sur 2 types de buvards **S&S903** et **3MM CHR**
multicentrique Nord
mesures par la technique **Biocentric ARN VIH-1**

- **faisabilité sur 3MM, reproductibilité** inter-et intra-laboratoire **correcte**, moindre variabilité des mesures / S&903
- **manque de précision**, optimiser reproductibilité d'un site à l'autre & d'une série à l'autre (élution / extraction = phase critique)
- **impact température et conditions locales de conservation**

Détection/Quantification de l'ADN VIH-1 intracellulaire

- test ADN VIH-1 = PCR en temps réel (LTR)
- détection/quantification de **l'ADN VIH total** (intégré et non intégré), dans les cellules infectées
- **diagnostic** de l'infection de **l'enfant** né de mère **VIH-1+**
 - sur sang total, PBMC ou culots cell. (Nerrienet et coll., soumis; Avettand et coll., soumis)
 - sites ANRS : Côte d'Ivoire, Cameroun, Burkina Faso, Vietnam, Cambodge + Kenya, Mozambique, Afrique du Sud (kesho bora)
 - France
 - standardisation nécessaire par développement d'une trousse Biocentric ADN avec un standard unique (3.5 €)

Diagnostic précoce de l'infection pédiatrique à VIH au Cambodge

- utilisation de la PCR ADN en temps réel sur buvard plus adapté aux Pays du Sud
- test sang total déposé sur buvard, avec extraction Chelex (E Nerriennet et N Ngo)

Faisabilité au Cambodge :

98 échantillons de bébés : « Buffy coat » déposés sur buvards et comparés au plasma sanguin testé par CV ARN VIH

Ngin S et coll., PARIS 2007

	ADN VIH +	ADN VIH -
ARN VIH +	69	5 (- puis +)
ARN VIH -	0	24

CONCLUSION

Technique de PCR ADN VIH faisable sur buvards et adaptée

Conclusions

ARN VIH-1

- test Biocentric ARN VIH : 50 000 tests en 2007 (alternative en seconde technique en routine)
- mise en évidence de défauts de la trousse Cobas Taqman
- technologie buvard nécessite une optimisation besoin pays du sud

ADN VIH-1

- test ADN VIH Biocentric validé, en cours d'évaluation (diagnostic BB) avec kit prélèvement buvard : au Cameroun, au Cambodge et en Côte d'Ivoire
- disponible au Nord pour diagnostic de l'infection chez l'enfant

Perspectives (1)

ARN VIH-1

Veille des outils de quantification, associée à **épidémiologie moléculaire** VIH-1 (Nord – Sud)

- étude des séquences LTR et Pol
- poursuite des évaluations des techniques commerciales et technique Biocentric

ADN VIH-1

Quantification des **“cellules réservoirs”**

- travaux de physiopathologie chez l'adulte
- essais thérapeutiques d'intensification ou de réduction des réservoirs

Perspectives (2)

technologie buvard ARN+ADN

- **Peditest DBS : site Abidjan**
diagnostic bébé à partir de buvard, par PCR ADN VIH Biocentric
= permettre le passage à l'échelle et étudier la faisabilité sur le terrain (région d'Abidjan)
- **2008 Projet "Enfant"** : suivi virologique des enfants infectés (AC11/AC12 E Nerrienet : Cambodge + Cameroun)
- **2008 Projet "Adulte"** : CV et Résistance (AC11/AC12 M Peeters - JC Plantier)