

## Évaluation de cinq tests rapides et de deux algorithmes pour le diagnostic de l'infection par le VIH au Niger.

A. Amadou, N. Kouka, A. Elhadj Mahamane & S. Chanteau (1)\*

(1) CERME BP 10887, Niamey, Niger.

\*Correspondance : Suzanne Chanteau, Tél.: 227 75 20 40 Fax: 227 75 31 80 E-mail: schanteau@cermes.ne

Manuscrit n° 2687. "Virologie". Reçu le 11 mai 2004. Accepté le 7 décembre 2004.

**Summary:** Assessment of five rapid tests and two algorithms for the HIV infection diagnosis in Niger.

Niger is a Sahelian country of 1,267,000 km<sup>2</sup> and 11 M inhabitants (84% living in rural area). The national seroprevalence of the HIV infection is low (2.08% in urban area and 0.64% in rural area). Because of limited resources, laboratories and qualified personnel are scarce, so the classical strategy using ELISA methods to diagnose HIV is available only in the capital Niamey. In order to define a strategy suitable to the Nigerian field conditions, we have determined the diagnostic value of five commercialised rapid assays (Génie II, InoCheck, Determine, Capillus and Doublecheck). A panel of plasma, whole blood and dried blood spot from 42 positive and 160 negative control individuals was tested and the sensitivity and specificity of each assay were calculated. The two best algorithms using two tests were selected: a algorithm discriminating HIV1 & 2 combining Determine and Génie II showing an excellent sensitivity and specificity (100%) but with many practical constraints; and a non discriminative algorithm combining Determine and Doublecheck less specific but workable on capillary blood and fully compatible with the field conditions. Its negative predictive value was 100% and its positive predictive value was > 97% for urban population and > 91% for rural population. Dried blood spots on filter paper proved to be very practical and efficient to use by the reference laboratory, for the quality control of the peripheral diagnostic centres.

**Résumé:**

La séroprévalence de l'infection par le VIH au Niger est de 2,08 % en milieu urbain et 0,64 % en milieu rural. Nous avons évalué la performance diagnostique de cinq tests rapides du commerce, dans le but de définir une stratégie de dépistage du VIH pour ce pays parmi les plus pauvres au monde et aux rudes conditions climatiques. A l'issue de cette étude, deux algorithmes associant deux tests rapides en série ont été dégagés : un algorithme 1 discriminant les VIH 1 et VIH 2 (Determine et Génie II) présentant une excellente sensibilité et spécificité (100 %), mais de nombreuses contraintes pratiques; et un algorithme 2 non discriminant (Determine et Doublecheck) légèrement moins spécifique, mais réalisable sur du sang capillaire et parfaitement compatible avec les conditions opérationnelles nigériennes. Sa valeur prédictive négative est de 100 %, et sa valeur prédictive positive est > 97 % en population urbaine et > 91 % en population rurale. L'utilisation de sang capillaire absorbé sur sérobuvard a été démontrée pratique et efficace pour la mise en œuvre d'un système de contrôle de qualité par le laboratoire de référence.

HIV  
rapid test  
whole blood  
dried blood spot  
Niger  
Sub-Saharan Africa

VIH  
test rapide  
sang total  
sérobuvard  
Niger  
Afrique intertropicale

### Introduction

Il est primordial, dans le cadre de la surveillance et du diagnostic de l'infection par le VIH, d'assurer la qualité des tests utilisés. La stratégie classique de diagnostic du VIH par deux tests ELISA séquentiels suivis d'une confirmation par Western blot est très difficile à appliquer dans les pays en développement, les plus sévèrement touchés par la pandémie du sida. L'utilisation des tests ELISA présente des difficultés pratiques nombreuses: personnel non qualifié, électricité défectueuse, maintenance insuffisante.

De nombreux tests rapides et simples sont à présent commercialisés. Leur performance a été constamment améliorée en termes de sensibilité, spécificité et mode de conservation (1, 3, 4, 5, 6, 7, 10). Ils conviennent parfaitement aux pays peu équipés en laboratoires et aux populations difficiles à atteindre, comme c'est le cas au Niger.

La présente étude a pour but d'évaluer la qualité individuelle intrinsèque de cinq tests rapides commercialisés et la performance de leur association séquentielle par deux, afin de proposer une stratégie alternative au diagnostic et au dépistage de l'infection par le VIH au Niger.

## Matériels et méthodes

### Constitution du panel d'échantillons d'évaluation

Le panel d'échantillons d'évaluation provient de 207 sujets résidant à Niamey. Leur statut sérologique de référence a été défini en suivant l'algorithme de référence du Niger (9) soit, séquentiellement des tests ELISA Genscreen Plus HIV Ag-Ab (Biorad), ELISA Vironostika (Organon Teknika), Immuno Comb II Bispot HIV 1 & 2 (PBS Organics), suivis d'un Western-blot InnoLia HIV de confirmation (Innogenetic). Sur les 207 sujets testés, 42 sujets sont positifs et 160 sujets sont négatifs. Les 5 autres sujets sont des sujets classés « indéterminés » selon leur profil Western-blot, et ils ont été analysés séparément.

Chaque sujet a été testé avec chacun des cinq tests rapides à partir de :

- sérobuvard : il s'agit d'un échantillon de sang capillaire obtenu par piqûre au bout du doigt à l'aide d'une lancette et déposé sur un papier buvard (Laboratoire LDA). Les sérobuvars sont séchés à température ambiante pendant 3 heures, mis dans des sachets plastiques étanches et conservés à 4 °C ;
- sang veineux prélevé sur un anti-coagulant (EDTA) ;
- plasma correspondant obtenu après centrifugation (10 minutes à 1500 t/min). Le reste du plasma est conservé à - 20 °C pour être testé ultérieurement avec l'algorithme de référence ELISA.

### Les tests rapides

Cinq tests rapides du commerce ont été évalués :

- 2 tests discriminants VIH1/2 : Génie II® HIV1/2 (Biorad), InoCheck® HIV1/2 (Inodia) ;

- 3 tests non discriminants : Determine® HIV1/2 (Abbott Laboratories), Capillus™ HIV1/2 (Trinity Biotech), Doublecheck Gold® HIV1/2 (PBS Organics).

Pour les sérobuvars, une pastille calibrée de sang séché a été réhydratée par 200 µl de tampon phosphate pH 7,2 à 4 °C pendant une nuit, et le surnageant a été utilisé. Le volume du tampon phosphate avait été préalablement calibré pour obtenir des densités optiques en ELISA équivalentes à celles obtenues avec le sérum des mêmes sujets (9).

Tous les échantillons ont été testés à l'aveugle avec chacun des cinq tests rapides en suivant le mode opératoire indiqué par chaque fournisseur.

### Statistiques

Les résultats ont été analysés à l'aide du logiciel Epi Info, avec un intervalle de confiance (IC) à 95 %.

La sensibilité d'un test est sa capacité à identifier correctement les individus ayant des anticorps anti-VIH et sa spécificité sa capacité à identifier correctement les individus qui n'ont pas d'anticorps anti-VIH.

La définition de l'algorithme de dépistage est basée sur la combinaison des performances de deux tests, le premier privilégiant la sensibilité et le second la spécificité. La sensibilité du premier test détermine la

sensibilité de l'algorithme et la spécificité du deuxième test détermine sa spécificité.

Le choix final de l'algorithme doit prendre en compte la situation épidémiologique du VIH de la population dans laquelle cette stratégie doit être appliquée et également de l'objectif du dépistage (diagnostic, surveillance, sécurité transfusionnelle...).

La valeur prédictive positive (VPP) est la probabilité, lorsqu'un algorithme est positif, que l'échantillon contienne réellement des anticorps anti-VIH. La valeur prédictive négative (VPN) est la probabilité, lorsqu'un algorithme est négatif, que l'échantillon ne contienne effectivement pas d'anticorps anti-VIH.

Pour le même test, la VPP et la VPN varient en fonction de la prévalence de l'infection par le VIH dans la population dans laquelle ce test doit être appliqué.

## Résultats

### Détermination de la performance diagnostique des tests rapides

Le tableau I résume la performance (sensibilité, spécificité) de chacun des cinq tests rapides avec les trois types d'échantillons sanguins.

Tableau I.

Sensibilité et spécificité de cinq tests rapides de dépistage du VIH, en fonction du type de prélèvement sanguin utilisé.

*Sensitivity and specificity of the five rapid tests for HIV screening according to the type of blood test being used.*

	Determine	Génie II	Double check	Inocheck	Capillus
<b>sensibilité % (IC 95 %)</b>					
- plasma (n = 42)	100 (89,6-100)	100 (89,6-100)	100 (89,6-100)	100 (89,6-100)	100 (89,6-100)
- sang total (n = 37)	100 (88,3-100)	100 (88,3-100)	100 (88,3-100)	100 (88,3-100)	100 (88,3-100)
- sérobuvard (n = 42)	100 (89,6-100)	100 (89,6-100)	100 (89,6-100)	95,2 (82,6-99,2)	88 (73,6-95,5)
<b>spécificité % (IC 95 %)</b>					
- plasma (n = 160)	98,8 (95,1-99,8)	100 (97,1-100)	95 (90-97,7)	98,1 (94,2-99,5)	98 (94,2-99,5)
- sang total (n = 160)	99,4 (86-100)	100 (97,1-100)	92,5 (87-95,9)	76,9 (69,4-83)	97,5 (93,3-99,2)
- sérobuvard (n = 160)	99,4 (86-100)	100 (97,1-100)	97,5 (93,3-99,2)	100 (97,1-100)	100 (97,1-100)

Toutes les valeurs sont de 100 %, sauf pour les tests Inocheck et Capillus dont les sensibilités sont de 100 % avec le plasma et le sang total mais respectivement de 95,2 % et 88 % avec le sérobuvard.

Pour la spécificité, seul le test Génie II donne une spécificité de 100 %, quel que soit le type de prélèvement sanguin utilisé. Le test Determine présente une excellente spécificité avec les trois types d'échantillons sanguins (98,8 à 99,4 %).

Dans le cas particulier des sujets de statut VIH « indéterminé », tous les sujets ont été trouvés négatifs (sang total, plasma, sérobuvard) avec les cinq tests rapides, à l'exception d'un individu dont seul le plasma a été trouvé positif avec les tests Determine et Génie II.

Les autres paramètres qui peuvent influencer sur le choix des tests au Niger sont résumés dans le tableau II.

Tableau II.

Autres paramètres pris en compte pour le choix d'un test et d'un algorithme.

*Others parameters taken into account for the choice of a test and algorithm.*

paramètres	Determine	Génie II	Double check	Inocheck	Capillus
facilité d'exécution	très facile	facile mais multi-étapes	très facile	très facile	très facile
interprétation et lecture	très facile	très facile	facile	facile	difficile
stabilité des résultats	très stable	très stable	pas très stable	instable	instable
discrimination VIH1 et VIH2	non	oui	non	oui	non
température transport, conservation	T° ambiante, < 30 °C	2-8 °C	T° ambiante < 30 °C	T° ambiante < 30 °C	2-8 °C
volume transport et stockage	très faible	conséquent	conséquent	conséquent	très faible
archivage résultats	oui	non	non	oui	non

Le coût des tests et la facilité d'approvisionnement sont d'autres paramètres à discuter avec chaque fournisseur.

### Choix du meilleur algorithme (tableau III)

Tableau III.

**Performance des algorithmes 1 et 2 en milieu rural et urbain au Niger.**  
*Result of the algorithms 1 and 2 in rural and urban area.*

performance	algorithme N° 1 (Determine, Génie II)		algorithme N° 2 (Determine, DoubleCheck)	
	prévalence milieu rural 0,64 %	prévalence milieu urbain 2,08 %	prévalence milieu rural 0,64 %	prévalence milieu urbain 2,08 %
<b>sensibilité</b>				
- plasma	100 %	100 %	100 %	100 %
- sang total	100 %	100 %	100 %	100 %
- sérobuvard	100 %	100 %	100 %	100 %
<b>spécificité</b>				
- plasma	100 %	100 %	99,94 %	99,94 %
- sang total	100 %	100 %	99,95 %	99,95 %
- sérobuvard	100 %	100 %	99,98 %	99,98 %
<b>VPP</b>				
- plasma	100 %	100 %	91,40 %	97,20 %
- sang total	100 %	100 %	93,40 %	97,90 %
- sérobuvard	100 %	100 %	97,70 %	99,30 %
<b>VPN</b>				
- plasma	100 %	100 %	100 %	100 %
- sang total	100 %	100 %	100 %	100 %
- sérobuvard	100 %	100 %	100 %	100 %

VPP = valeur prédictive positive  
VPN = valeur prédictive négative

Le meilleur algorithme est l'association séquentielle des tests Determine et Génie II. Cet algorithme 1 présente une sensibilité et une spécificité de 100 %, quel que soit le type d'échantillon sanguin testé. Il a comme autres avantages : la facilité de lecture et la stabilité des résultats, la discrimination entre les virus VIH-1 et VIH-2 par le test Génie II. Par contre, le test Génie II présente deux inconvénients majeurs : la multiplicité des étapes et des réactifs qui augmentent les risques d'erreurs et limitent le nombre de tests réalisables en série, et la conservation obligatoire des kits à +2-8 °C. De plus, la présentation des kits pose un problème de volume pour leur transport et leur stockage en chambre réfrigérée.

Ces contraintes, importantes pour un pays au climat sahélien, nous ont amené à considérer un algorithme alternatif associant les tests Determine et Doublecheck. Cet algorithme 2 présente une sensibilité de 100 % et une spécificité > 99,9 %, quel que soit le type d'échantillons sanguins. Il a des qualités qui sont importantes à prendre en considération dans les conditions opérationnelles du Niger : facilité d'exécution (mono-étape), transport et stockage à température ambiante (30 °C). Par contre, le test Doublecheck est un peu moins spécifique et n'est pas discriminant. Le délai de la lecture doit être respecté pour éviter les faux positifs.

### Valeurs prédictives positives (VPP) et négatives (VPN) des deux algorithmes proposés.

Pour chaque algorithme et chaque type de prélèvement sanguin, les VPP et VPN ont été calculées pour le milieu urbain et le milieu rural en prenant les séroprévalences nationales obtenues en 2002. Avec l'algorithme 1, les VPP et VPN sont égales à 100 %, quel que soit le type de milieu. Avec l'algorithme 2, la VPP est légèrement inférieure, mais reste excellente. Il est intéressant de noter, quel que soit l'algorithme considéré, que les meilleures VPP ont été obtenues avec du sang collecté sur sérobuvard.

## Discussion

L'évaluation des cinq tests rapides sur un panel d'échantillons cliniques a montré que tous peuvent être réalisés avec du plasma, du sang total ou du sang séché sur sérobuvard. La possibilité d'utiliser du sang total est un avantage important pour les centres de dépistage en périphérie (pas de centrifugation et ni de décantation du sérum). L'utilisation des sérobuvards facilitera la procédure de contrôle de qualité de ces laboratoires par le laboratoire de référence (expédition facile à température ambiante des prélèvements).

Le test Determine présente de très nombreux avantages (tableau II) et il est le seul qui soit archivable dans un registre (vérification possible des résultats en cas de discordance, supervision par le laboratoire de référence, contrôle de qualité). Très sensible, il est le plus robuste des cinq tests évalués. Il est donc proposé comme premier test de criblage dans l'algorithme de dépistage.

Pour la deuxième épreuve en cas de résultat positif au premier test, le test Génie II a été légitimement identifié en raison de sa grande spécificité.

Cet algorithme 1 a une sensibilité et une spécificité de 100 % avec l'avantage d'une discrimination entre les virus VIH1 et VIH2, important dans la stratégie de prise en charge des malades et éventuellement dans celui de la PTME. Cependant, le test Génie II présente des inconvénients pratiques et il ne figure actuellement pas dans la liste de l'AFSSAPS des tests agréés en France ou en Europe. Il est cependant inscrit dans la liste de l'OMS depuis début 2003.

Un algorithme alternatif combinant les tests Determine et Doublecheck est donc également proposé. Sa sensibilité est de 100 % et sa spécificité reste très élevée (> 99,9 %). Cet algorithme 2 présente de nombreux avantages : facilités d'exécution, de lecture, de transport et de conservation qui sont des atouts considérables et indéniables dans les conditions opérationnelles nigériennes. De plus, les deux tests de cet algorithme sont praticables sur du sang capillaire total. Par contre, il ne fait pas la discrimination entre les virus VIH1 et VIH2.

En ce qui concerne la valeur prédictive négative, elle est de 100 % pour les deux algorithmes, en raison de leur excellente sensibilité. Pour la valeur prédictive positive, compte tenu de la très faible séroprévalence du VIH au Niger (2), elle est excellente pour l'algorithme 1 (100 %) et reste très bonne pour l'algorithme 2 (> 97 % en population urbaine et > 91 % en population rurale).

Selon la stratégie OMS II (8), l'algorithme 2 peut parfaitement convenir à un dépistage pour la surveillance anonyme dans les populations où la prévalence du VIH est inférieure à 10 %. Pour le diagnostic de l'infection chez les sujets asymptomatiques, trois tests sont nécessaires. L'algorithme 2 pourrait alors être pratiqué sur le premier prélèvement de sang, et le test ImmunoComb II Bispot sur un deuxième prélèvement pour la confirmation. Ce dernier test est discriminant, sa sensibilité et sa spécificité, déterminées sur le même panel de sérums, ont été de 100 % (résultats non présentés).

Il est intéressant aussi de noter que les cinq sujets de statut VIH « indéterminé » ont été trouvés négatifs par les cinq tests rapides étudiés, à l'exception d'un seul individu trouvé positif avec le plasma uniquement et avec les tests Détermine et Génie II.

### Remerciements

Nous remercions les chefs des services de l'Hôpital Lamordé, l'Hôpital national de Niamey, du Centre national anti-tuberculeux et du laboratoire d'analyses du CERMES qui ont facilité le recrutement des sujets nécessaires à cette étude; et le Dr Pascal BOISIER pour sa contribution à l'analyse statistique des résultats.

Cette étude a été financée par le projet NIG/012 2003/011 de Lux Développement. Les sociétés Biorad (Génie II) et Inodia (Inocheck) ont fourni gracieusement leurs tests.

### Références bibliographiques

1. ANDERSON S, DA SILVA Z, NORRGEN H, DIAS F & BIBERFELD G - Field evaluation of alternative testing strategies for diagnosis and differentiation of HIV1 and HIV2 infections in an HIV1 and HIV prevalent area. *AIDS*, 1997, **11**, 1815-1822.
2. BOISIER P, OUWE MISSI OUKEM-BOYER ON, AMADOU HAMIDOU A, SIDIKOU F, IBRAHIM ML *et al.* - Nationwide sero-epidemiological survey of HIV in general population in Niger: prevalence 0.9%, pre-eminence of HIV-1, rural-urban contrast. *Trop Med Internat Health*. (sous presse).

3. FRENCH N, MPTIIRWE B, NAMARA AH & NYALO G - HIV testing strategies at a community clinic in Uganda. *AIDS*, 1997, **11**, 1779-1790.
4. KASSLER WJ, ALWANO-EDEYGU MG, MARUM E, BIRYAHWAHOO B, KATAAHA P & DILLON B - Rapid HIV testing same-day results: a field trial in Uganda. *Int J STD AIDS*, 1998, **9**, 134-138.
5. KOBLAVI-DEME S, MAURICE C, YAVO D, SIBAILLY TS, N'GUESAN K *et al.* - Sensitivity and specificity of HIV rapid serologic assays and testing algorithms in an antenatal clinic in Abidjan, Côte d'Ivoire. *J Clin Microbiol*, 2001, **39**, 1808-1812.
6. NG KP, SAW TL, BAKI A, HE J, SINGH N & LYLES CM - Evaluation of a rapid test for detection of antibodies to human immunodeficiency virus type 1 and 2. *Int J STD AIDS*, 1999, **10**, 401-404.
7. NKENGASONG J, MAURICE C, KOBLAVI S, KALOU M, YAVO D *et al.* - Evaluation of HIV serial and parallel serologic testing algorithms in Abidjan, Côte d'Ivoire. *AIDS*, 1999, **13**, 109-117.
8. OMS/CDC/APHL - Directives pour l'évaluation des techniques de dépistage du VIH en Afrique. *Document technique*. 2003. 71 p.
9. OUKEM-BOYER O, AMADOU H A, SIDIKOU, AMADOU G & LOUBOUTIN-CROC JP - Validation of a VIH algorithm using dried blood spots (DBS) for the seroepidemiological survey in Niger. (en soumission).
10. THORSTENSSON R, ANDERSON S, LINDBACK S, DIAS F, MHALU F *et al.* - Evaluation of 14 commercial HIV1/HIV2 antibody assays using serum panels of different geographical origin and clinical stage including a unique seroconversion panel. 1998, *J Virol Meth*, **70**, 139-151.