

s'engagent sur ces questions et aident rapidement les acteurs de terrain à « tenir les promesses ».

1 - « Monitoring treatment efficacy in the context of resource limited settings », TULPO1

2 - Walker K.C., et al., « Implementation of the partners in health (PIH) community-based model of HIV care and prevention in a rural health district in Rwanda », TUPE025

3 - Epino H.M. et al., « Preliminary outcomes of patients receiving supervised antiretroviral therapy in rural Rwanda », WEPE0086

4 - WHO HIV Prevention and Treatment Guidelines 2006, [www.who.int](http://www.who.int)

5 - Hildebrand K. et al., « Targeting early virological escape is a powerful tool to keep patients on first line when there are limited salvage options », CDB0780

6 - Calmy A. et al., « New models of treatment monitoring in resource-poor settings: is viral load a dream or a necessity? », CDB0114

7 - Ngin S. et al., « The HIV-1 RNA real time PCR: a low cost strategy to diagnose HIV infection in infants born from HIV-infected mothers in Cambodia and Viet Nam », MOPE0098

8 - Dineva M. et al., « Visual dipstick detection of HIV-1 genome in resource-limited settings », MOPE0083

## MESURER LA CHARGE VIRALE AU SUD

Catherine Desmoulin  
Pistes (Paris)

**Si (presque) plus personne ne conteste la nécessité de la surveillance biologique dans les pays du Sud, il reste à trouver les outils simples, abordables et faisables en zone rurale... Antigénémie p24, mesure de l'activité réverse transcriptase, PCR en temps réel, dipstick : « En attendant l'arrivée du test idéal qui n'est pas encore pour demain, mieux vaut faire avec ce que l'on a, car il y a urgence » conseille Christine Rouzioux.**

Premier constat : l'idée de mesurer les charges virales dans les pays du Sud commence à être acceptée. Et une surveillance uniquement basée sur les CD4, comme cela a encore été présenté durant la Conférence, ne fait plus beaucoup d'adeptes. « Pour preuve, l'essai Dart, d'interruption de traitement avec ou sans biologie, basé uniquement sur les CD4, s'est fait huer à la Conférence de Toronto » commente Christine Rouzioux. La nécessité de pouvoir disposer à la fois des CD4 et de la charge virale s'impose donc. Les représentants des pays d'Afrique, présents à la Conférence, ont également fait savoir qu'ils étaient en droit de disposer de cet outil pour optimiser la gestion des traitements ARV, au même titre que les pays du Nord. Durant une session portant sur la façon de surveiller l'efficacité des traitements dans les pays à ressources limitées, Christine Rouzioux<sup>1</sup> a passé en revue les différentes techniques disponibles ou en cours de développement.

### AGP24

L'antigénémie p24 fait appel à une technique Elisa – donc relativement simple et peu coûteuse. « En pratique, sur le terrain, le manque de kits à grande échelle est aujourd'hui un handicap » a précisé la virologue. Le vrai problème de ce mar-

queur, constaté dans les différentes études, est qu'il manque de spécificité. Et surtout, sa cinétique n'est pas superposable à celle de la charge virale. « Il ne peut donc pas s'y substituer » a conclu Christine Rouzioux.

### TRANSCRIPTASE INVERSE

Le Cavidix Exavir load test mesure l'activité de la transcriptase inverse et donne un résultat en équivalent de charge virale (ARN copies/mL). Les deux cinétiques sont effectivement superposables. Il se pratique au moyen d'un test Elisa, avec les avantages sus cités. Sa fourchette de détection va de 1 000 (seuil de sensibilité) à 1 000 000 copies/mL. Sa bonne reproductibilité à partir de petits échantillons sanguins en fait une bonne alternative à la charge virale chez l'enfant<sup>2,3</sup>. « En pratique, cependant, le test reste assez cher (30 dollars/test) et long puisqu'il faut 3 jours pour faire 30 tests. Il est donc encore peu adapté pour réaliser de grandes séries de mesures » a dit Christine Rouzioux.

### ARN

Quatre firmes développent aujourd'hui des tests commerciaux de quantification de la charge virale par mesure de l'ARN viral, sensibles et de bonne qualité : Abbott (CX et RT PCR temps réel), Bayer (DNA assay), Biomérieux (Nuclisens HIV-1 QT NASBA) et Roche (Cobas Amplicor Monitor 1,5 et Cobas Taqman). Mais tous, issus de la biologie moléculaire, posent le problème du coût prohibitif et des moyens humains et techniques nécessaires pour les réaliser.

Une autre limite soulevée par Christine Rouzioux est la capacité limitée de ces tests face à la grande biodiversité des virus africains. Près de 30 % des virus recombinants de type mosaïque peuvent être mal quantifiés et sous-estimés, ce qui, au niveau du résultat final du test, peut faire prendre un échec thérapeutique pour un succès. « Il faudrait vraiment mettre en place un standard international pour comparer les quantifications par ces tests, et il faut que les firmes travaillent de manière plus concertée ».

Toutes les firmes se tournent aujourd'hui vers la technique de PCR en temps réel pour sa rapidité et sa fiabilité. Beaucoup de nouveaux réactifs sont en développement. Ce test fait appel à une sonde fluorescente qui enregistre en temps réel la quantité de produit synthétisé, proportionnelle à la quantité initiale d'ARN-VIH de l'échantillon. Outre la rapidité, les conditions opérationnelles protègent des risques de contamination. Ces techniques montrent non seulement une bonne sensibilité mais aussi une bonne spécificité.

### PCR EN TEMPS RÉEL (ANRS)

L'ANRS a opté pour la PCR en temps réel, essentiellement pour les programmes dans les pays du Sud. Elle utilise un kit « maison » de réactifs, ouvert, c'est-à-dire capable d'évoluer dans le temps pour être adapté à la diversité des souches virales.

*« Il s'agissait à l'origine d'une technique pour les programmes de recherche en Afrique et en Asie. Mais nous avons ensuite élargi son utilisation à certaines situations de routine, comme le dépistage de l'infection chez les enfants. Le test s'est révélé fiable et relativement facile à réaliser pour des techniciens entraînés. Ainsi, depuis mai 2005, plus de 1 300 tests de charge virale en temps réel ont été pratiqués au Cambodge et autant en Côte d'Ivoire ».*

Ce test est proposé sous forme de kit par la société Biocentric et son prix est de 8 euros au départ de Paris (250 tests). Plusieurs pays intéressés par ce kit ont demandé à le tester (le Luxembourg, le Zimbabwe, la Zambie, mais aussi le CDC).

Précision : comme les autres techniques de biologie moléculaire, y compris les techniques commerciales, elle nécessite d'être pratiquée dans des laboratoires de bon niveau, de type laboratoire de référence.

### DIPSTICK

Le test idéal, pour les pays du Sud, serait le dipstick, schématiquement un buvard trempé dans le sang qui permettrait de

connaître le taux de CD4 et la charge virale au moyen d'une réaction colorée. Mais, aussi facile que cela puisse paraître, il faut tout de même procéder à une phase d'extraction des acides nucléiques, ce qui ne peut pas être facilement simplifié.

Une limite actuelle de ce test est sa sensibilité, de l'ordre de 10 000 copies/mL. *« Cette sensibilité n'atteint pas la recommandation d'avoir un ARN-VIH inférieur à 400 copies/mL pour juger de l'efficacité d'un traitement »* commente Christine Rouzioux.

### INVESTISSEMENT PRIVÉ

La fondation Clinton a beaucoup investi sur le dipstick dans son programme de recherche. Elle a aussi un plan d'attaque pour la création de laboratoires de biologie, comprenant à la fois l'implantation, la formation des techniciens, et le suivi à long terme de la qualité des résultats. La fondation Gates procède de la même manière avec une procédure d'implantation des laboratoires de biologie qu'elle va créer. *« En comparaison des promesses d'implantation de laboratoires des fondations Gates et Clinton, les programmes de monitoring de l'ANRS peuvent paraître petits, cependant ils peuvent aussi être vus en complémentarité comme référence académique »* commente Christine Rouzioux. *« Nous sommes là pour vérifier la validité de ces tests de monitoring qui seront forcément issus de négociations entre les fondations et les firmes, avec des enjeux financiers considérables... »*

On voit que les recherches de techniques alternatives sont nombreuses mais pas encore totalement abouties. *« On ne peut pas donner des médicaments sans surveillance thérapeutique biologique virologique. Il est inutile de retarder cette surveillance en attendant le test idéal. Les techniques de biologie moléculaire existent et ont démontré leur efficacité dans les pays du Sud. Mieux vaut donc les utiliser car il y a urgence à traiter les enfants et à préserver les premières et deuxième lignes de traitement ».*

## MESURE DES CD4 VERSUS CHARGE VIRALE ?

*« Non, il faut ces deux outils car ils n'ont pas du tout le même objectif, répond Christine Rouzioux. Les taux de CD4 sont la conséquence d'un traitement bien pris et d'une maladie qui régresse. La charge virale est le reflet à la fois du succès (ou de l'échec) virologique et de l'observance, ce qui permet d'envisager différentes stratégies : counseling ou décision de seconde ligne. L'objectif étant d'éviter les résistances et de capitaliser les médicaments ».*

1 - Rouzioux C., « Currently available methods for the quantitative assessment of plasma viral load », TULP0102

2 - Greengrass V. et al., « Evaluation of the CAvidi Exavit load quantitative HIV RT load it as an alternative HIV viral load monitoring test for use in resource-constrained settings Diagnostic and laboratory monitoring tools including in the context of resource-poor settings », TUAB0204

3 - Vercauteren G. et al., « Assessment of the performance characteristics of a low-cost HIV viral load technology », MOPE0107