

DETECTION DES ANTICORPS ANTI-VIH DANS LA SALIVE : ETUDE PRELIMINAIRE

BIGOT A.¹, ZOHOUN I.¹, KODJOH N.², AHOUGNAN G.¹
ZOHOUN Th.³, TONATO S.¹, BURTONBOY G.⁴

RESUME

Nous avons examiné parallèlement le sang et la salive de 129 personnes par 4 tests de dépistage du VIH. Les tests utilisés sont : l'immunocapture Wellcozyme HIV1-HIV2, le Wellcozyme HIV1-HIV2, le Sérodiagnostic HIV et le Combostat HIV1-HIV2.

Nous avons observé des réactions faussement négatives dans les salives de personnes séropositives. L'importance de la fausse négativité varie selon la trousse et la méthode utilisées.

Dans les tests exécutés sur salive, l'immunocapture Wellcozyme est le plus sensible des 4 tests. Il pourrait être utilisé dans le cadre d'une enquête épidémiologique.

Mots-clés : Anticorps anti VIH, détection, salive.

SUMMARY

We have checked simultaneously samples of saliva and blood collected from 129 persons for HIV detection. The following diagnosis tests were used : immunocapture Wellcozyme HIV1-HIV2, Wellcozyme HIV1-HIV2, Sérodiagnostic HIV, Combostat HIV1-HIV2.

The results indicated false negative reactions with some saliva samples collected from seropositive patients. The percentage of false negative results were related to the diagnosis tests and method used. From the analysis of the test on saliva, it has been shown that immunocapture presents the best sensibility. Immunocapture test could be a usefull technique for epidemiology studies.

1 - INTRODUCTION

La détection des anticorps anti VIH, aux fins de diagnostic, de surveillance biologique des sidéens ou d'études épidémiologiques, se pratique habituellement dans du sérum.

1 - Service d'Hématologie et d'Immunologie CNHU, Cotonou, BENIN.

2 - Service de Médecine Interne CNHU, Cotonou, BENIN.

3 - Département de Santé Publique, FSS BP 188, Cotonou, BENIN.

Les tests utilisés pour dépister ces anticorps sont généralement des tests Elisa qui sont extrêmement sensibles et de bonne spécificité. Cependant, l'obtention de sérum exige une ponction veineuse qui n'est pas toujours facile surtout chez les petits enfants. En outre, ce type de prélèvement est souvent mal accepté par certaines populations des pays en voie de développement. Dans ces pays, la ponction veineuse pourrait même contribuer à la propagation du virus si la même aiguille sert à prélever des personnes différentes.

En 1987, PARRY et coll. (5) ont proposé la détection des anticorps anti VIH dans la salive.

Ce genre de prélèvement est plus facilement applicable à une enquête de masse et peut être effectué par les sujets eux-mêmes. En outre, le coût du prélèvement de salive est inférieur à celui d'un prélèvement sanguin.

Malgré tous ces avantages, la salive présente un inconvénient : sa basse concentration en immunoglobulines. Ce facteur semble la disqualifier comme humeur biologique utilisable en sérologie courante.

Cependant, la sensibilité des tests RIA permet une très bonne détection des anticorps anti VIH dans la salive par la technique GACRIA (une variante d'immunocapture). PARRY et coll. (5) ont obtenu une aussi bonne sensibilité et spécificité dans la salive que dans le sérum. La même méthode avec un conjugué marqué par une enzyme au lieu de I 125 paraît moins bonne (4).

D'autres auteurs (1, 2), utilisant aussi des méthodes Elisa sur la salive, ont généralement obtenu une proportion de faux négatifs plus grandes sur la salive que sur le sérum.

2 - MATERIELS ET METHODES

Des échantillons de salive et de sang sont prélevés chez 52 prostituées exerçant dans la ville de Cotonou et chez 77 tuberculeux, hospitalisés au Centre de Pneumophtisiologie de cette même ville.

4 - Service de Virologie Fondamentale, Université Catholique de Louvain, 1 200, Bruxelles, BELGIQUE.

Ces échantillons de salive ont été recueillis dans des tubes en polypropylène de 5 ml contenant une goutte de thio-merosal à 1 % P/V. Les tubes sont pourvus d'un bouchon vissé fermant hermétiquement.

Des échantillons de sang sont prélevés parallèlement . Les sérums et salives sont testés en parallèle par des tests Elisa conventionnels : Combostat HIV1-HIV2 et Wellcozyme HIV1-HIV2. En outre, ils ont été testés par une technique d'agglutination sur particules de gélatine (Sérodiagnostic HIV).

Pour les tests pratiqués sur sérum, nous avons fait les dilutions selon les indications du fabricant lorsque celui-ci le stipule. Nous n'avons pas dilué la salive, compte-rendu de sa faible teneur en immunoglobulines.

Les mêmes échantillons ont été testés en immunocapture GAC Elisa utilisant le test Wellcozyme 1+2. Les microplaques utilisées pour le dosage des anticorps anti VIH sont préparées de la manière suivante : une solution à 5 µg par ml d'IgG anti-humaine de lapin dans du tampon carbonate (Na₂CO₃ 0,15M NaHCO₃ 0,03M PH 9,6) est préparée et distribuée à raison de 100 µl dans des puits de microplaque. Les microplaques sont ensuite recouvertes avec une feuille autocollante et laissées à 4°C pendant au moins 18 heures. Le lendemain, les plaques sont sorties et laissées pendant 30 minutes à la température du labora-

toire. Elles sont ensuite lavées trois fois avec 300 µl de tampon PBS-tween 0,1 % et sont utilisées le même jour.

Tous les échantillons dont la densité optique est supérieure ou égale au cutt-off dans les tests effectués sur sérum, sont confirmés en WB1 et WB2 (diagnostics Pasteur). Nous considérons qu'un échantillon est positif pour VIH1 lorsque les protéines d'enveloppe (GP120, GP41) et leur précurseur, GP160, les protéines d'enzyme (P64, PS1, P34) et la protéine de core P25 et son précurseur P55 sont détectés simultanément.

Pour le VIH2, un échantillon est considéré comme positif, lorsque trois protéines d'enveloppe (GP140, GP105, GP36), une protéine du core (P26) et son précurseur (P56) sont détectés simultanément.

3 - RESULTATS

Sur les 129 échantillons examinés, 103 soit 79,8 % donnaient une réaction négative dans toutes les techniques et quel que soit le liquide biologique testé.

Par contre, 16 échantillons réagissent dans tous les tests de dépistage utilisant le sérum et la salive. Les sérums correspondant reconnaissent en WB1 et/ou en WB2, toutes les protéines du VIH1 et ou du VIH2.

Pour 10 sujets, des discordances sont observées. Elles dépendent du milieu biologique et du test utilisé.

Tableau 1 : Résultat des échantillons discordants

Echantillons	Immunocapture		Wellcozyme		Sérodiagnostic HIV		Combostat 1+2	
	Salive	Sérum	Salive	Sérum	Salive	Sérum	Salive	Sérum
1	+	+	+	+	-	+	-	+
2	+	-	+	+	-	+	-	+
3	+	+	-	+	-	+	-	+
4	+	+	-	+	-	+	-	+
5	+	-	-	+	-	-	-	-
6	+	+	-	+	-	-	-	-
7	+	+	-	+	-	+	+	+
8	+	+	-	+	-	+	-	+
9	-	+	-	+	-	+	-	+
10	-	+	-	+	-	+	-	+

-Deux échantillons de sérum donnent des résultats positifs dans tous les tests et même au WB. Les échantillons de salive correspondants ne réagissent cependant dans aucun des tests utilisés.

- Six sérums donnent des réactions positives dans le test Combotest, dans le test Wellcozyme et dans le test Sérodia. De ceux-ci, 5 seulement réagissent dans le test immunocapture ; tous ces sérums sont confirmés positifs au WB. Les salives correspondant à ces échantillons sont toutes détectées positives dans le test immunocapture. Mais deux d'entre eux seulement réagissent dans les tests ABBOTT et Wellcozyme et aucun dans le test de Sérodia.

- Un seul échantillon de sérum est négatif dans tous les tests y compris le WB. L'échantillon de salive corres-

pondant est aussi négatif dans tous les tests sauf dans le test immunocapture.

- un autre échantillon de sérum est uniquement positif en immunocapture et au test Wellcozyme. La salive correspondant réagit seulement dans le test immunocapture. Au WB, aucun des deux sérums ne contient des anticorps dirigés contre les protéines du VIH.

La sensibilité et la spécificité de chacun de ces tests ont été calculées par rapport au test Elisa Combotest effectué sur sérum. Nous avons privilégié ce test par rapport au WB à cause de sa bonne sensibilité (1).

Le tableau 2 donne les résultats de la sensibilité et de la spécificité.

Tableau 2 : Sensibilité et spécificité de la salive et du sérum dans les différents tests par rapport au Combotest

Fiabilité des tests	Sérodia HIV		Wellcozyme		Combotest		Immunocapture	
	Salive	Sérum	Salive	Sérum	Salive	Sérum	Salive	Sérum
Sensibilité	66,5	100	75	100	75	100	92	99
Spécificité	100	100	100	98	100	100	100	99

4 - DISCUSSION

Des trois tests commerciaux conventionnels utilisés dans cette étude pour dépister des anticorps anti VIH dans la salive, aucun ne donne une sensibilité acceptable. Dans le test Sérodia et dans celui de la Firme Combotest, le sérum est dilué 16 ou 40 fois.

Nous n'avons pas dilué la salive. La concentration en anticorps de la salive non diluée est 800 fois moindre que celle du sérum. Ainsi s'explique la moindre sensibilité des tests sur la salive.

Dans nos expériences, l'immunocapture a manifestement une meilleure sensibilité que les autres méthodes. Ceci confirme aussi les résultats de JONHSON (4). Nos résultats sur la salive concordent assez bien avec ceux d'autres auteurs.

CROFT et ses coll. (3), testant les salives de 50 séropositifs par le test ABBOTT HIV-1 Elisa, ont trouvé que six d'entre eux ne réagissent pas dans cette technique.

Avec une technique semblable, JONHSON et coll. (4) ont trouvé 18 % de faux négatifs sur 184 séropositifs testés

malgré une modification du cutt-off de 20 % en dessous du seuil admis par le fabricant.

BEHETS et coll. (2) par contre, ont obtenu par la méthode Elisa (Vironostika, Organon, Baxtel, Holland), 2 % de faux négatifs dans les salives de 145 prostituées séropositives.

Il est possible que certains résultats négatifs soient dus à l'hydrolyse des anticorps par les protéases de la salive. Il serait intéressant d'essayer d'améliorer les résultats par l'addition aux tubes de prélèvement d'un inhibiteur spécifique tel que le phényl-méthyl-sulfonyl-fluoride.

5 - CONCLUSION

Cette étude préliminaire montre que le test d'immunocapture a une sensibilité suffisante dans le cadre d'une enquête épidémiologique. Il faudrait cependant évidemment confirmer nos résultats par des essais sur un plus grand nombre de séropositifs. Il faudrait aussi vérifier que le WB sur salive permet une bonne différenciation entre le VIH-1 et le VIH-2.

BIBLIOGRAPHIE

1 - AYRES L., AVILLES F., GARCIA-BENITO D., DEINHARDT F., GUTLER L., DENIS F., LEONARD G., RANGER S., GROB P., JOLLER-JAMELKA H., HESS G., SEIDL S., FLACKE H., SIMON F., BRUN-VEZINET F., SONDAG D., ANDRE A., HAMPL H., SCHOEN R., STREAMER S., TROONEN H.

Multicenter evaluation of HIV1 and HIV2.
AIDS, 1990, 4, 131-138.

2 - BEHETS F.M., EDDI B., QUINN T.C., ATIKALA L., BISHAGARA K., NZILA N., LAGA M., PIOT P., RYDER R.W., BROWN C.C.

Detection of salivary HIV1 specific IgG antibodies in high-risk populations in Zaïre.

J. Acquired Immune Deficiency Syndroms, 1991, 4, 183-187.

3 - CROFTS N., NICHOLSON S., COGHLAN P., GUST I.D.

Testing of saliva for antibodies to HIV1.

AIDS, 1991, 5, 561-563.

4 - JONHSON A.M., PARRY J.V., BEST S.J., SMIT A.M., DE SILVA M., MORTIMER P.P.

HIV surveillance by testing saliva.

AIDS, 1988, 2, 369-371.

5 - PARRY J.V., PERRY K.R., MORTIMER P.P.

Sensitive assays for viral antibody in saliva : an alternative to tests on serum.

Lancet, 1987, II, 72-75.