

Global Programme on AIDS

Interpretation of dually seroreactive HIV-1 and HIV-2 blood samples

The WHO testing strategies include the use of combined HIV-1/2 tests (ELISAs and simple/rapid tests) that are designed to detect antibodies to HIV-1 and HIV-2. Currently, most of these combined tests do not differentiate between the two infections, and specific HIV-1 or HIV-2 Western blot assays, or other supplemental tests, must be used for differentiation. Differentiation is often difficult due to cross-reactivity of antibodies, even with specific Western blot assays; i.e. the sera from some individuals infected by HIV-1 alone produce positive reactions using HIV-2 assays and vice versa. A positive result using both HIV-1 and HIV-2 tests may therefore signal either dual infection by HIV-1 and HIV-2, or cross-reactivity. Differentiation would be of value for serosurveillance purposes and for specific research purposes.

A study was conducted in Côte d'Ivoire on 56 dually seroreactive sera, to ascertain what proportion of dual reactivity, as determined by Western blot and supplemental assays, was due to genuine dual infection with HIV-1 and HIV-2, and what proportion was due to cross-reactive antibodies from individuals infected with only 1 viral genotype. Sera were defined as dually seroreactive if they exhibited antibodies reactive to at least 2 of the envelope proteins of each virus using specific Western blot assays, and if they were also reactive with equal intensity to the gp41 peptide of HIV-1 and the gp36 peptide of HIV-2 using other specific supplemental assays. The polymerase chain reaction (PCR) method was then used to assess the presence of viral nucleic acid in peripheral blood mononuclear cells (PBMC) from the people with dually reactive sera.

PCR is a method which detects proviral DNA in PBMC and can be used to differentiate between HIV-1 and HIV-2. It can be performed directly on cells collected from patients or on patients' cells that have been cultured *in vitro*.

Programme mondial de lutte contre le SIDA

Interprétation de la double séroréactivité vis-à-vis du VIH-1 et du VIH-2

Les stratégies de dépistage préconisées par l'OMS comportent l'utilisation de tests associés VIH-1/2 (ELISA et tests simples/rapides) conçus pour déceler les anticorps dirigés contre le VIH-1 et le VIH-2. Actuellement la plupart de ces tests associés ne permettent pas de distinguer les deux infections, et des méthodes par immunotransfert (Western blot) spécifiques du VIH-1 et du VIH-2 ou encore d'autres tests complémentaires doivent être mis en œuvre pour établir la distinction. Celle-ci est souvent difficile à démontrer en raison des réactions croisées des anticorps, y compris avec les titrages par Western blot spécifiques: le sérum de sujets contaminés par le VIH-1 seul donne des réactions positives avec une méthode pour le VIH-2 et inversement. Un résultat positif en utilisant à la fois des tests VIH-1 et VIH-2 peut par conséquent être indicateur soit d'une double infection par le VIH-1 et le VIH-2, soit de réactions croisées. La distinction entre ces deux situations aurait de l'intérêt à la fois pour la sérosurveillance et pour certains objectifs de la recherche.

Une étude a été réalisée en Côte d'Ivoire sur 56 sérums doublement séroréactifs, afin de déterminer la proportion de doubles réactivités, mesurée par Western blot et au moyen de titrages complémentaires, imputable à une réelle double infection par le VIH-1 et le VIH-2, et celle qui revient aux anticorps donnant des réactions croisées chez des sujets infectés par un seul génotype viral. La définition des sérums doublement réactifs était la suivante: présence d'anticorps réagissant avec au moins 2 des protéines d'enveloppe de chacun des virus, objectivée par des titrages en Western blot spécifiques, et réactivité d'intensité égale au peptide gp41 du VIH-1 et au peptide gp36 du VIH-2 objectivée au moyen d'autres titrages complémentaires spécifiques. La PCR (*polymerase chain reaction* ou amplification génique) a ensuite été utilisée pour établir la présence d'acide nucléique viral dans les mononucléaires du sang périphérique lorsque les sujets avaient un sérum doublement réactif.

La PCR permet de déceler l'ADN proviral dans les mononucléaires du sang périphérique et peut servir à distinguer le VIH-1 du VIH-2. Elle est réalisable soit directement sur les cellules recueillies chez le patient soit sur les cellules du patient cultivées *in vitro*.

Using PCR directly on uncultured cells collected from patients, 41% of those with dually seroreactive sera were classified as infected with both viruses simultaneously, 57% were classified as infected with HIV-1 alone and 1 person was found to be PCR negative (Table 1). Strain variability and the low numbers of virus, particularly in the case of HIV-2 infected people, are thought to contribute to the negative PCR result. It is interesting to note that none of the dually seroreactive samples were found to be positive for HIV-2 alone by PCR. A similar study, also conducted in Côte d'Ivoire, reported that 62% of individuals who were reactive serologically to the two viruses were dually infected, 30% were infected with HIV-1 alone and 8% with HIV-2.¹

La PCR appliquée directement aux mononucléaires recueillis chez le patient et non cultivés a donné les résultats suivants: 41% des personnes dont le sérum était doublement séroréactif ont été classées infectées simultanément par les deux virus, 57% ont été classées infectées par le VIH-1 seul et une était négative à la PCR (Tableau 1). On estime que la variabilité des souches et la faible charge virale, en particulier chez les personnes infectées par le VIH-2, sont à l'origine, en partie du moins, des résultats négatifs observés en PCR. On remarquera qu'aucun des prélèvements doublement réactifs n'a été trouvé positif pour le VIH-2 seul avec la PCR. Dans une étude comparable réalisée également en Côte d'Ivoire, on a observé que 62% des sujets sérologiquement réactifs vis-à-vis des deux virus étaient porteurs d'une double infection; 30% étaient infectés par le VIH-1 seul et 8% par le VIH-2.¹

Table 1 Interpretation of dually seroreactive HIV-1 and HIV-2 blood samples, percentage PCR^a-positive samples, Côte d'Ivoire

Tableau 1 Interprétation de la double séroréactivité vis-à-vis du VIH-1 et du VIH-2, pourcentage d'échantillons positifs en PCR,^a Côte d'Ivoire

	HIV-1 and HIV-2 VIH-1 et VIH-2	HIV-1 alone VIH-1 seul	HIV-2 alone VIH-2 seul	PCR-negative Négatif en PCR
Current study - Etude actuelle	41	57	0	1.8
Previous study ^b - Etude antérieure ^b	62	30	8	0

^a Polymerase chain reaction. - Amplification génique

^b *The Lancet*, 340: pp. 337-339.

The data presented here corroborate the previous study, and the combined results suggest that a substantial proportion of dually reactive sera are probably due to double infection with HIV-1 and HIV-2, while the remainder are due to single infection alone. The use of different PCR methodologies, particularly whether patients' cells are cultured prior to PCR, is thought to be largely responsible for the variation in prevalence of dual infections reported in these two studies. These findings should be borne in mind when interpreting results of HIV testing in areas where both HIV-1 and HIV-2 are endemic.

¹ *The Lancet*, 340: pp. 337-339.

Les données présentées ici confirment l'étude précédente et leurs résultats combinés permettent de penser qu'une proportion importante des sérums doublement réactifs a probablement pour origine une double infection par le VIH-1 et le VIH-2, tandis que le reste est dû à une seule infection. L'utilisation de la PCR selon des méthodologies différentes, et en particulier la culture préalable ou non des mononucléaires, serait la principale source de variation de la prévalence des doubles infections signalée dans ces deux études. L'interprétation des résultats du dépistage du VIH dans les zones où le VIH-1 et le VIH-2 sont tous deux endémiques doit tenir compte de ces conclusions.

¹ *The Lancet*, 340: pp. 337-339.