

## Evaluation des tests rapides pour le dépistage de l'AgHBs au laboratoire d'Immunologie CHUA-JRA Ampefiloha, Antananarivo, Madagascar

*Evaluation of two rapid diagnostic testing for detecting hepatitis B surface antigen AgHBs at the unit of Immunology at the CHUA-JRA Ampefiloha, Antananarivo, Madagascar*

D.H. Rajaonatahina (1), Z.A. Randriamanantany (1)\*, R. Rakotomalala (1),  
R. Andriamahenina (1), B. Contamin (2), O.A. Rakoto Alson (3),  
A. Rasamindrakotroka (4)

(1) UPFR Immunologie, Hôpital Joseph Ravoahangy AndrianaValona, CHU Antananarivo, Madagascar.

(2) Centre d'Infectiologie Charles Merieux, Antananarivo, Madagascar.

(3) UPFR Hématologie, Hôpital Joseph Ravoahangy AndrianaValona, CHU Antananarivo, Madagascar.

(4) Laboratoire de Biologie clinique de La Faculté de Médecine d'Antananarivo, Madagascar.

### Résumé

**Introduction.** L'infection au virus de l'hépatite B est endémique à Madagascar qui est une zone de haute endémicité. Il est important de faire correctement le diagnostic étant donné les complications possibles de la maladie. Cette étude a pour objectif d'évaluer deux tests de diagnostic rapides de diagnostic pour la détection de l'antigène de surface AgHBs du virus de l'hépatite B: le kit Determine HBsAg<sup>®</sup> (Abbott Diagnostics Japan) et SD Bioline<sup>®</sup> (Standard Diagnostic Corée), en les comparant par rapport à un test ELISA, le kit Genscreen HBsAg (BioRad France).

**Patients et méthode.** Nous avons testé les sera de notre sérothèque comprenant 76 sérums positifs et 74 sérums négatifs avec les 3 tests.

**Résultats.** Nous avons trouvé respectivement une sensibilité à 96,1%, une spécificité à 93,2%, une VPP à 93,6%, une VPN à 95,8% pour le kit Determine HBsAg<sup>®</sup> et une sensibilité à 92,5%, une spécificité à 87,8%, une VPP à 86,0%, une VPN à 93,5% pour le SD Bioline HBsAg<sup>®</sup>.

**Conclusion.** Le kit Determine HBsAg<sup>®</sup> semble être plus performant que le second. Toutefois, ils ne satisfont pas les critères optimaux de diagnostic (sensibilité et spécificité supérieures à 98%).

**Mots clés:** tests de diagnostic rapide, AgHBs, Antananarivo, Madagascar

### Abstract

**Introduction.** Hepatitis B virus infection is endemic in Madagascar. A reliable method of diagnosis is important to avoid severe complications. The aim of this study was to assess two rapid diagnostic tests of diagnosis of hepatitis B infection in order to detect the small surface antigen (HBsAg): kit Determine HBsAg<sup>®</sup> (Abbott Diagnostics Japan) and kit SD Bioline<sup>®</sup> (Standard Diagnostic Corea), by comparing to the ELISA testing, using Genscreen HBsAg kit (BioRad France).

**Methods.** We tested sera of our serotheque for each test including 76 serum positives results and 74 serum negatives results.

**Results.** Sensitivity was 96.1 %, specificity was 93.2%, PPV was 93.6%, and NPV 95.8% for the kit Determine HBsAg<sup>®</sup>. For the kit SD Bioline HBsAg<sup>®</sup>, sensitivity was 92.5%, specificity 87.8%, PPV 86.0%, and NPV 93.5%

**Conclusion.** Determine HBsAg<sup>®</sup> was most performant than SD Bioline<sup>®</sup>. However, no test has fulfilled optimal criteria for diagnosis which are sensitivity and specificity more than 98%.

**Key words:** rapid diagnostic tests, AgHBs, Antananarivo, Madagascar

## Introduction

L'infection par le virus de l'hépatite B (HBV) atteint 2 milliards de sujets soit le tiers de la population mondiale dont 5% atteints d'infection chronique soit 300-350 millions [1,2]. L'HBV est la première cause de cirrhose et carcinome hépato-cellulaire et provoque 500 000 à 1 million de décès par an [3,4]. Elle fait partie des 3 premières causes de décès par cancer dans certaines régions [3]. A Madagascar, la prévalence de la positivité à l'antigène de surface de l'hépatite B, AgHBs, est estimée à 23% dans la population générale, situant le pays à un niveau de haute endémicité pour le virus de l'hépatite B [3,5,6]. Malgré cette prévalence très élevée, il n'existe pas de stratégie bien définie pour le dépistage de cette infection, ni dans la population générale, ni dans les populations à risque comme les femmes enceintes.

Selon l'Institut National de Prévention et d'Education pour la Santé (INPES), les marqueurs de l'infection par le VHB sont nombreux et leur prescription diffère selon le contexte [3].

Les tests de diagnostic rapide (TDR) ont connu un essor ces dernières années pour répondre aux attentes de la population, des autorités sanitaires et des médecins lors des contextes d'urgence. Ces tests aident les autorités sanitaires régionales, nationales et internationales dans la prise de décision et de mesures visant à prévenir la diffusion de processus infectieux épidémiques et à prendre en charge les malades [7]. Cette étude a été effectuée dans le but selon les recommandations de la directive européenne 98/79/CE d'évaluer des TDR utilisables dans nos centres de santé. Notre objectif est d'évaluer deux tests rapides de diagnostic pour la détection de l'antigène de surface AgHBs du virus de l'hépatite B: le kit Determine HBsAg<sup>®</sup> et SD Bioline<sup>®</sup>, en les comparant par rapport à un test ELISA, le kit Genscreen HBsAg.

## Matériels et méthodes

Cette étude a été menée au sein de l'unité paraclinique de formation et de recherche (UPFR) en Immunologie du Centre Hospitalier Universitaire (CHU) Joseph Ravoahangy Andrianavalona Ampefiloha. Nous avons évalué deux tests rapides (TDR) à partir des séra de notre sérothèque collectés de juin 2009 à juin 2010 et stockés à -20°C. La sérothèque comprend 150 séra dont 76 positifs et 74 négatifs, qui ont été précédemment testés avec le kit ELISA Genscreen.

Les tests rapides testés dans cette étude sont des tests immunochromatographiques de dosage qualitatif, à lecture visuelle, pour la détermination de l'antigène de surface de l'hépatite B AgHBs. Il s'agit du kit Determine HBsAg<sup>®</sup>, (Abbott Diagnostics, Japon) et SD Bioline HBsAg<sup>®</sup> (Standard Diagnostics, Corée). Les tests ont été comparés au test ELISA Genscreen<sup>®</sup> AgHBs (Bio-Rad, Marnes-la-Coquette, France) qui était notre étalon or pour cette étude. Nous avons effectué l'évaluation des tests avec 76 séra positifs et 74 séra négatifs pour le Determine<sup>®</sup> HBsAg et 40 sérums positifs et 49 sérums négatifs pour le SD Bioline<sup>®</sup> HBsAg (la quantité de sérum collecté pour la sérothèque était parfois minime et n'ayant pas permis d'effectuer les 2 tests en même temps). Les résultats ont été saisis sur EPI INFO 6 version 6.04 d et analysés avec ce même logiciel.

## Résultats

La sensibilité du kit Determine<sup>®</sup> était de 96,1% (95% IC 88,1-99,0), sa spécificité était de 93,2% (95% IC 84,3-97,5), sa valeur prédictive positive (VPP) était de 93,6% (95% IC 85,0- 97,6) et sa valeur prédictive négative était de 95,8% (95% IC 87,5-98,9).

Pour le kit SD Bioline<sup>®</sup>, sa sensibilité était de 92,5% (95% IC 78,5-98,0), sa spécificité de 87,8% (95% IC 74,5-94,9), sa valeur prédictive positive de 86,0% (95% IC 71,4-94,2) et sa valeur prédictive négative de 93,5% (95% IC 81,1-98,3).

Les détails des résultats sont résumés dans les tableaux 1 et 2.

## Discussion

Les résultats montrent une sensibilité à 96,1%, une spécificité à 93,2%, une VPP à 93,6%, une VPN à 95,8% pour le Determine<sup>®</sup> HBsAg et une sensibilité à 92,5%, une spécificité à 87,8%, une VPP à 86,0%, une VPN à 93,5% pour le SD Bioline<sup>®</sup> HBsAg. La performance optimale est atteinte pour les tests rapides de détection de l'AgHBs actuels, avec une sensibilité de l'ordre de 98 à 99% suivant le kit [3]. Ces tests ne pourront pas atteindre une sensibilité à 100%. En effet, plusieurs faits et hypothèses peuvent expliquer ce fait. Tout d'abord, par l'existence des virus mutants qui ont des antigènes de surface modifiés, rendant ainsi impossible leur détection par les techniques immunologiques de routine. Les anticorps inclus dans les réactifs étant fabriqués à partir des virus sauvages, les mu-

tants non inclus [8] et même les kits ELISA ne peuvent pas tous les détecter malgré leur haute sensibilité et spécificité [9]. La deuxième hypothèse vient de l'existence des personnes réellement infectées qui ont une charge virale et une quantité de marqueurs quasiment indétectables [10,11]. Enfin, pour poser un diagnostic correct de l'infection au virus de l'hépatite B, il faut considérer la proportion de personnes porteuses d'infection occulte au virus, qui malgré leur infection réelle n'ont pas d'AgHBs détectable et leur diagnostic repose uniquement sur les techniques moléculaires ou des variantes des techniques usuelles [12,13]. C'est pour ces raisons que des recommandations sont sorties pour le diagnostic de l'infection au virus de l'hépatite B. Ainsi, les dernières recommandations pour le dépistage de l'hépatite B suggèrent une recherche de l'Ag HBs associée à des tests de détection des Ac anti-HBc et anti-HBs. Les derniers tests de détection (Ag HBe, Ac anti-HBe ainsi que la recherche du génome viral) font partie du bilan diagnostique du niveau d'activité de l'hépatite B, et c'est une stratégie conseillée pour le screening des donneurs de sang [14]. La situation actuelle à Madagascar ne permet pas de suivre cette stratégie car nous ne sommes pas actuellement en mesure d'effectuer le dosage de ces différents marqueurs que dans de rares centres équipés des grandes villes.

**Tableau 1.** Résultat du test Determine® HBsAg par rapport au Genscreen ELISA

	Genscreen positif (n)	Genscreen négatif (n)	Total
Determine® positif	73	5	78
Determine® négatif	3	69	72
<b>Total</b>	<b>76</b>	<b>74</b>	<b>150</b>

Notre étude a pris comme gold standard un test ELISA qui a servi pour déterminer le statut sérologique, positif ou négatif, de nos échantillons. Une étude menée par l'Institut Pasteur de Madagascar sur le kit Determine®, mais de fabrication allemande utilisant la même méthodologie a montré des résultats différents avec une spécificité de 100% et une sensibilité comparable à la nôtre [15]. Cette différence pourrait être expliquée par la différence de sensibilité des kits ELISA pour l'AgHBs ayant servi de gold standard [16].

**Tableau 2.** Résultat du test SD Bioline® HBsAg par rapport au Genscreen ELISA

	Genscreen positif (n)	Genscreen négatif (n)	Total
SD Bioline® positif	37	6	43
SD Bioline® négatif	3	43	46
<b>Total</b>	<b>40</b>	<b>49</b>	<b>89</b>

## Conclusion

Malgré les limites des tests de diagnostic rapide pour le dépistage d'AgHBs commercialement disponibles, ils restent actuellement le seul moyen pour les pays en développement comme Madagascar d'effectuer le diagnostic de l'infection par l'hépatite B surtout dans les zones enclavées. Il faut optimiser autant que possible cet unique moyen par l'utilisation des tests les plus performants possibles. Pour Madagascar, nous pensons qu'il est approprié d'utiliser les deux TDR en attendant l'évaluation d'autres tests, en considérant que le Determine® HBsAg est apparemment plus performant que le SD Bioline® HBsAg et que l'utilisation de TDR est efficace pour les centres de santé peu équipés.

## Remerciements

Nous tenons à remercier le Dr Bénédicte Contamin (Centre d'Infectiologie Charles Mérieux, Antananarivo) de nous avoir doté en tests Determine® HBsAg et le Laboratoire Standard Diagnostics de nous avoir fourni les tests SD Bioline® HBsAg.

## Références

- Bailey R. Hépatite B. *Clinical News* 2008; 14: 6-9.
- Kane MA. Global status of hepatitis B immunisation. *Lancet* 1996; 348: 696.
- Aubry P. Hépatites virales en zones tropicales. Actualités 2007. [http://medecinetropicale.free.fr/cours/hepatite\\_virale.html](http://medecinetropicale.free.fr/cours/hepatite_virale.html). Mise à jour le 12/01/2007 (accès le 01/05/2011).
- Dienstag JL. Hepatitis B virus infection. *N Engl J Med* 2008; 359(14): 1486-500.
- Migliani R, Rousset D, Rakoto-Andrianarivelo M, *et al.* Hepatitis B virus infection: a public health problem in Madagascar. *Arch Inst Pasteur Madagascar* 2000; 66(1-2): 50-4.

6. Liaw YF, Chu CM. Hepatitis B virus infection. *Lancet* 2009; 373: 582-92.
7. Chakour M, Koeck JL, Maslin J, *et al.* Diagnostic biologique rapide en contexte épidémique: états des lieux, perspectives. *Med Mal Infect* 2003; 33: 396-412.
8. Kitchen A. Hepatitis b and blood safety. *Vaccine* 1998; 16: S34-37.
9. Ireland JH, O'Donnell B, Basuni AA, *et al.* Reactivity of 13 in vitro expressed hepatitis B surface antigen variants in 7 commercial diagnostic assays. *Hepatology* 2000; 31(5): 1176-82.
10. Gerlich WH, Glebe D, Schuttler CG. Deficiencies in the standardization and sensitivity of diagnostic tests for hepatitis B virus. *J Vir Hep* 2007; 14(Suppl 1): 16-21.
11. Laperche S, Boukatou G, Kouegnigan L, *et al.* Transfusion safety on the African continent: an international quality control of virus testing in blood banks. *Transfusion* 2009; 49(8): 1600-8.
12. Van Hemert FJ, Zaaijer HL, Berkhout B, *et al.* Occult hepatitis B infection: an evolutionary scenario. *Virology* 2008; 5: 146.
13. Satoh K, Iwata-Takakura A, Yoshikawa A, *et al.* A new method of concentrating hepatitis B virus [HBV] DNA and HBV antigen: an application of the method to the detection of occult HBV infection. *Vox Sanguinis* 2008; 95(3): 174-80.
14. Candotti D, Allain JP. Transfusion-transmitted hepatitis B virus infection. *J Hepatol* 2009; 51: 798-809.
15. Randrianirina F, Carod JF, Ratsima E, *et al.* Evaluation of the performance of four rapid tests for detection of hepatitis B surface antigen in Antananarivo, Madagascar. *J Virol Methods* 2008; 151(2): 294-7.
16. Scheiblauer H, El-Nageh M, Diaz S, *et al.* Performance evaluation of 70 hepatitis B virus [HBV] surface antigen [HBsAg] assays from around the world by a geographically diverse panel with an array of HBV genotypes and HBsAg subtypes. *Vox Sanguinis* 2010; 98(3): 403-14.