



HAUTE AUTORITÉ DE SANTÉ

**DÉTECTION DU GÉNOME DU VIH  
AU SEIN DES FRACTIONS DU SPERME**

Classement NABM : 16-02 - code : non codé

**JUILLET 2006**

**Service évaluation des actes professionnels**

## L'ÉQUIPE

---

Ce dossier a été réalisé par le Dr Cédric Carbonneil, docteur ès sciences, chef de projet au service évaluation des actes professionnels.

La recherche documentaire a été effectuée par Christine Devaud, documentaliste, avec l'aide de Renée Cardoso, sous la direction du Dr Frédérique Pages, docteur ès sciences.

L'organisation de la réunion et le travail de secrétariat ont été réalisés par Félix Muller.

.....  
Pour tout contact au sujet de ce dossier :

Tél. : 01 55 93 71 12

Fax : 01 55 93 74 35

E-mail : [contact.seap@has-sante.fr](mailto:contact.seap@has-sante.fr)

Service évaluation des actes professionnels  
Chef de service, Dr Sun Hae Lee-Robin  
Adjoint au chef de service, Dr Denis Jean David, docteur ès sciences

## SYNTHÈSE

---

### INTRODUCTION

Les actes « Détection qualitative et quantitative de l'ARN VIH-1 et VIH-2 dans le plasma séminal et/ou la fraction finale des spermatozoïdes » et « Détection qualitative de l'ADN proviral du VIH-1 et du VIH-2 dans la fraction finale des spermatozoïdes » ont pour objet la détection du génome viral VIH par biologie moléculaire dans le sperme. Ils sont proposés dans le cadre de la prise en charge du désir d'enfant par assistance médicale à la procréation (AMP) lorsque le père est infecté par le VIH. À la demande de la Direction générale de la santé, la Haute Autorité de santé a évalué le service attendu de ces actes en vue de leur inscription sur la liste des actes de biologie médicale pris en charge par l'Assurance maladie (Nomenclature des actes de biologie médicale - NABM).

### CONTEXTE

On considère aujourd'hui que le VIH est présent dans le sperme des hommes infectés, sous forme libre ou associé aux cellules. Lorsque au sein d'un couple, l'homme est séropositif pour le VIH, ce couple doit recourir à une AMP pour avoir les meilleures chances d'avoir un enfant non infecté par le VIH. L'arrêté du 10 mai 2001 prévoit que ce couple peut bénéficier d'une AMP « à risque viral » s'il s'engage à avoir une vie sexuelle protégée, y compris pendant la grossesse et l'allaitement, et sous différentes conditions virologiques. La détection du génome du VIH-1 dans les fractions du sperme fait partie de ces conditions ; elle peut conduire, soit à retarder la prise en charge (si on compte plus de 10 000 copies/ml), soit à traiter le sperme avant l'AMP. En revanche, l'AMP n'est pas actuellement autorisée pour les patients infectés par le VIH-2.

Les actes de détection de l'ARN et de l'ADN du VIH dans les fractions du sperme n'ont pas été identifiés dans les nomenclatures française, québécoise, belge et australienne ; mais ils ont été identifiés dans la nomenclature américaine.

### ÉVALUATION

La méthode proposée par la HAS pour évaluer le service attendu ou rendu des actes professionnels est fondée sur les données scientifiques identifiées et sur l'avis de professionnels recueilli par enquête téléphonique ou lors d'une réunion de groupe de travail.

#### Analyse critique de la littérature

##### Publications étudiées

Une recherche documentaire sans limite de temps a été effectuée par interrogation des principales bases de données bibliographiques médicales (Medline, la *Cochrane Library*, *National Guideline Clearinghouse* et *HTA Database*). 113 documents ont été obtenus.

Seules ont été sélectionnées les études rapportant des données de sensibilité et de spécificité du test, avec des effectifs supérieurs à 30 et utilisant une technique spécifique pour caractériser uniquement l'acide nucléique viral recherché (ADN ou ARN) et non la totalité des génomes viraux (ARN+ ADN).

Cinq études ont répondu à ces critères : 2 études de contrôle qualité multicentriques, 1 étude de standardisation et 2 séries de cas, totalisant 374 patients inclus et 19 centres évalués.

##### Indications

Prise en charge du désir d'enfant chez les couples dont l'homme est infecté par le VIH.

##### Efficacité diagnostique et place dans la stratégie thérapeutique

###### 1. Détection de l'ARN VIH-1 dans le plasma séminal et dans les spermatozoïdes

- **La mesure de la charge virale ARN VIH-1 dans le plasma séminal** est réalisée par un ensemble de techniques de biologie moléculaire évaluées par les 5 études retenues. Il n'existe ni test de référence ni alternative. L'utilisation d'échantillons de spermes séronégatifs pour le VIH auxquels ont été additionnées (ou non) des quantités connues de VIH-1 a permis de valider ces tests. La littérature indique que cet acte présente une sensibilité globale supérieure à 75 % (à un seuil de 500 copies/ml) et une spécificité globale supérieure à 70 %. Toutefois, lorsque les équipes impliquées sont expérimentées dans les procédures d'extraction et de détection d'acides nucléiques dans le sperme et lorsque la technique utilisée implique des kits commerciaux, sensibilité et spécificité sont supérieures à 90 %.

- **Les techniques de détection de l'ARN VIH-1 dans les spermatozoïdes** ont été évaluées par deux des études retenues, totalisant 51 patients et 9 centres. Il n'existe ni test de référence ni alternative. L'utilisation d'échantillons de fractions de spermatozoïdes (ou de cellules séminales) séronégatifs pour le VIH auxquels ont été additionnées (ou non) des quantités connues de VIH-1 a permis de valider ces tests. La littérature indique que cet acte présente une sensibilité variant de 33 à 100 % avec une sensibilité globale supérieure à 95 % (à un seuil de 500-1 000 copies/ml). Si les équipes utilisant la RT-PCR en temps réel sont exclues, les sensibilités sont toujours supérieures à 66 %. La spécificité varie de 75 à 100 % avec une spécificité globale supérieure à 82 %.

- **Ces actes permettent d'évaluer et de réduire le risque de transmission du VIH dans la procédure d'AMP.** Ainsi, depuis 2001, leur place dans la stratégie thérapeutique est décrite par l'arrêté du 10 mai 2001 stipulant que : « *une évaluation de la charge virale ARN sera effectuée dans le plasma séminal avant traitement du sperme : si le nombre de copies par ml est supérieur à 10 000, le couple ne pourra être pris en charge tant que cette situation persistera. Dans le cas inverse, un traitement du sperme est effectué en privilégiant l'emploi de deux techniques successives, gradient de densité puis migration ascendante avec lavages intermédiaires ; la détection d'ADN proviral ou d'ARN est réalisée dans la fraction finale. On doit exiger qu'elle soit négative pour une utilisation en assistance médicale à la procréation.* » L'analyse de la littérature n'a fourni aucun élément permettant de remettre en cause la mesure de la charge virale d'ARN du VIH-1 dans le plasma séminal et dans la fraction finale, toutefois, aucune donnée n'argumente aujourd'hui le seuil d'accès à l'AMP de 10 000 copies/ml.

## 2. Détection de l'ADN VIH-1 dans les spermatozoïdes

- **Différentes techniques** ont été évaluées par des études de contrôle qualité multicentriques totalisant 8 centres évalués. Il n'existe ni test de référence ni alternative. L'utilisation d'échantillons de fractions de spermatozoïdes (ou de cellules séminales) séronégatifs pour le VIH auxquels ont été additionnées (ou non) des quantités connues de VIH-1 a permis de valider ces tests. La littérature indique que cet acte présente des sensibilités variant de 41 à 100 % avec une sensibilité globale supérieure à 95 % (pour un seuil de 500 copies/ml). Ici, la RT-PCR en temps réel donne les meilleurs résultats. La spécificité varie de 66 à 100 % avec une spécificité globale de 82 %.

- L'absence de données prouvant l'intégration du VIH au sein des spermatozoïdes et le caractère facultatif, d'un point de vue légal, de cette détection si celle des ARN du VIH-1 est réalisée sur la fraction finale suggèrent que **la mesure de la charge d'ADN proviral VIH-1 au sein de la fraction finale des spermatozoïdes n'est plus nécessaire.**

## 3. Détection du génome VIH-2 dans le plasma séminal et les spermatozoïdes

**Aucune étude** n'a été retrouvée sur ce sujet.

### **Sécurité**

Sans objet pour un test *in vitro* réalisé sur un recueil de sperme.

### **Conditions d'exécution**

Ces actes doivent être réalisés uniquement en vue d'une procédure d'AMP. Les conditions matérielles de réalisation de ces actes doivent être conformes à celles énoncées par l'arrêté du 10 mai 2001. L'équipe chargée de la détection virale doit disposer d'un plateau technique de biologie moléculaire en virologie. La préparation de la fraction finale des spermatozoïdes doit être réalisée par une équipe possédant une expérience suffisante dans ce domaine.

### **Impact sur la santé de la population, le système de soins et les programmes de santé publique**

La détection du génome du VIH dans les fractions du sperme permet de valider la sécurité virale des spermatozoïdes préparés, utilisables en AMP. En France, sur la période 2003-2004, 598 couples ont eu recours à l'AMP dans ces conditions, sans aucun cas de transmission, et donc sans risque de contamination de tiers ou de décès à long terme.

Cependant, ces actes imposent de stocker les gamètes au minimum durant la période de réalisation de l'évaluation virologique. Il est donc nécessaire de prévoir des procédures de stockage au sein d'une filière sécurisée « risque viral » ainsi qu'une organisation et des locaux adéquats. Toutefois, aucune étude permettant l'évaluation économique de ce sujet n'a été retrouvée.

### **Enquête téléphonique**

Vingt professionnels couvrant tous les centres français ayant déclaré une activité d'AMP à risque viral VIH (9 virologues/infectiologues et 11 biologistes de la reproduction) ont été contactés. Le taux de réponse a été de 95 %.

### État des pratiques françaises

Au total, d'après les résultats de cette enquête, la réalisation de l'étape de préparation du sperme est aujourd'hui variable selon les centres d'AMP, et ce en fonction de la qualité du sperme ou du contrôle virologique. Ce dernier est aujourd'hui systématiquement précédé d'une étape de dilution, d'extraction ou d'ultracentrifugation permettant de réduire l'impact des inhibiteurs de PCR spermatique. Tous les centres utilisent des kits commerciaux de détection d'ARN VIH, qui ont présenté la meilleure efficacité d'après la littérature. La population cible estimée par les professionnels est concordante avec les données de l'Agence de la biomédecine, à savoir une fourchette de 300 à 500 patients par an. Concernant la détection de l'ADN proviral du VIH-1, en accord avec la littérature, la majorité des laboratoires de virologie utilise la PCR en temps réel. Toutefois, deux centres ne réalisent plus cet examen, compte tenu de l'absence de détection récente d'ADN proviraux dans les fractions finales et de l'absence de preuve indiquant l'infection des spermatozoïdes par le VIH.

Enfin, cette enquête a confirmé l'absence de données publiées sur la détection du génome VIH-2 dans le sperme. Toutefois, cette situation pourrait évoluer rapidement, compte tenu de la demande des patients et de la volonté de l'équipe concernée de publier rapidement des données. La population cible a d'ailleurs été estimée à moins de 10 patients par an.

### Position du groupe de travail

#### 1. Détection de l'ARN VIH-1 dans le plasma séminal et la fraction finale des spermatozoïdes

##### **Indications et efficacité**

L'indication identifiée dans la littérature est effectivement celle pour laquelle ce test est proposé. Les données d'efficacité concernant la détection dans la fraction finale et le plasma séminal ont été consensuellement validées par le groupe de travail.

##### **Conditions d'exécution**

Les conditions d'exécution définies par le groupe de travail sont les suivantes :

- Aucun recueil chirurgical testiculaire (ou biopsie testiculaire) de spermatozoïdes ne doit être réalisé dans le cadre d'une AMP à risque viral compte tenu de la présence de sang dans l'échantillon, donc de l'obligation d'une analyse virologique dans ce cadre, qui ne pourrait être réalisée faute d'un nombre suffisant de spermatozoïdes récoltés. Concernant les prélèvements épидидymaires, la HAS suivra l'avis de l'Agence de la biomédecine.
- Les laboratoires de virologie réalisant cet acte :
  - doivent travailler en collaboration avec un centre AMP ayant déclaré une activité à risque viral et comprenant une équipe pluridisciplinaire incluant un virologue, afin de valider les données virologiques ;
  - ne prendront en charge que les couples adressés par les équipes précédemment citées, afin d'éviter toute dérive, notamment chez des patients enclins à avoir des rapports sexuels non protégés après avoir obtenu en dehors du cadre de l'AMP des résultats de charge virale séminale négative ;
  - doivent posséder un plateau technique de virologie médicale comprenant des techniques d'extraction et de purification des acides nucléiques permettant d'éliminer les inhibiteurs de PCR (à l'exclusion de la technique de lyse-précipitation) et utilisant un système de contrôle interne ;
  - doivent participer au Contrôle national de qualité (CNQ, sous l'égide de l'Afssaps) concernant la mesure de la charge virale VIH-1 plasmatique (si cela est possible, le groupe de travail souhaiterait qu'un CNQ évaluant la détection de l'ARN VIH-1 au niveau du plasma séminal soit réalisé ; la participation des laboratoires de virologie réalisant cet acte à ce CNQ serait alors recommandée).
- Il est recommandé :
  - d'utiliser au moins 500 000 spermatozoïdes lors de la détection sur la fraction des spermatozoïdes ;
  - d'expliciter dans le compte rendu les techniques d'extraction et d'amplification et le seuil de détection.

### **Place dans la stratégie diagnostique/thérapeutique**

Le groupe de travail a indiqué que la recherche d'ARN VIH-1 doit être systématiquement réalisée sur le plasma séminal. Si celle-ci se révèle négative, il ne sera pas nécessaire d'effectuer une nouvelle recherche sur la fraction finale. En revanche, si la détection de l'ARN VIH-1 est positive au sein du plasma séminal, une nouvelle recherche sera réalisée au niveau de la fraction finale des spermatozoïdes. On exigera que cette nouvelle recherche soit négative pour une utilisation ultérieure du sperme en AMP.

D'autre part, le groupe de travail a estimé que le seuil de prise en charge des patients devrait être élevé à l'ordre de 100 000 copies d'ARN VIH-1 par ml de plasma séminal, car il s'agit de la valeur limite publiée de l'efficacité des méthodes de lavage du sperme.

Compte tenu de ces éléments, le groupe de travail a donc considéré de manière consensuelle que cet acte pourrait être inscrit à la NABM avec les conditions précédemment citées.

## 2. Détection de l'ADN VIH-1 et VIH-2 dans la fraction finale des spermatozoïdes

### **Indications et efficacité**

L'indication identifiée dans la littérature est effectivement celle pour laquelle ce test est proposé. Les données d'efficacité concernant la détection dans la fraction finale et le plasma séminal ont été consensuellement validées par le groupe de travail.

### **Place dans la stratégie diagnostique/thérapeutique**

Le groupe de travail a considéré qu'il n'y avait plus aujourd'hui de raison de détecter l'ADN proviral du VIH-1 au niveau de la fraction finale des spermatozoïdes, compte tenu des preuves apportées par la littérature relative à l'absence d'infection des spermatozoïdes par le VIH-1. De plus, aucune étude récente identifiée n'a abordé ce sujet. Cette position du groupe de travail est d'ailleurs en accord avec la position consensuelle sur ce sujet de la communauté scientifique internationale.

Il a été consensuellement indiqué par le groupe de travail que cette position est également valable pour la détection de l'ADN du VIH-2.

## 3. Détection de l'ARN VIH-2 dans le sperme

### **Indications et efficacité**

Les indications sont identiques à celles déterminées pour la détection de l'ARN VIH-1. Toutefois, aucune donnée d'efficacité concernant la détection de l'ARN VIH-2 dans les différentes fractions du sperme n'a pu être identifiée.

### **Conditions d'exécution**

Le groupe de travail a indiqué que :

- la détection du VIH-2 au sein des fractions du sperme ne représente pas un écueil technique majeur du fait de sa similarité avec la détection du VIH-1 ;
- néanmoins il n'existe pas à l'heure actuelle de technique spécifique du VIH-2 utilisant des contrôles internes ;
- seuls les sous-types majoritaires en France peuvent être détectés ;
- la détection du VIH-2 présentera moins de sensibilité et de spécificité que la détection du VIH-1.

### **Place dans la stratégie diagnostique/thérapeutique**

Le groupe de travail a indiqué que la prise en charge des patients VIH-2 qui souhaitent avoir recours à l'AMP doit être effective, afin que disparaisse l'inégalité entre patients infectés par le VIH-1 et le VIH-2. Toutefois, le groupe de travail a également reconnu qu'aucun critère spécifique à l'inclusion des patients VIH-2 n'a été pour l'heure établi.

Compte tenu de ces éléments, le groupe de travail s'est accordé sur le fait que :

- la détection de l'ARN VIH-2 reste pour l'heure un acte de recherche clinique ;
- des études permettant de fournir des données d'efficacité doivent être entreprises ;
- devant le faible nombre de demandes possibles de prise en charge en AMP de patients infectés par le VIH-2, le groupe de travail, s'il est favorable à une réévaluation de l'acte de détection du VIH-2 dans le sperme, n'a pu définir une date de réévaluation.

## CONCLUSION

### 1. Détection de l'ARN VIH-1 dans le plasma séminal et la fraction finale des spermatozoïdes

La détection du génome du VIH dans les fractions du sperme est l'un des deux éléments (avec l'étape de préparation) rendant possible la réalisation d'une procédure d'AMP à risque viral, seule méthode validée aujourd'hui permettant aux couples dont l'homme est infecté par le VIH de réaliser leur projet parental avec un minimum de risque de transmission horizontale et verticale.

Cet acte a montré son efficacité concernant la détection du génome du VIH dans la fraction finale des spermatozoïdes ainsi que dans le plasma séminal. Les conditions d'exécution de l'acte sont celles définies par le groupe de travail, l'arrêté du 10 mai 2001 étant en cours de révision.

Enfin, il s'agit d'un besoin non couvert relatif à une pathologie engageant le pronostic vital. L'ASA pourrait donc être de niveau I. Toutefois, la population cible est de taille réduite (300 à 500 patients/an) avec un risque de contamination potentiel de faible niveau, les patients admis en AMP à risque viral étant très bien suivis.

En conclusion, **le service attendu (SA) est suffisant, avec une amélioration du service attendu (ASA) importante (niveau II).**

### 2. Détection de l'ADN VIH-1 et VIH-2 dans la fraction finale des spermatozoïdes

La détection de l'ADN du VIH-1 ou du VIH-2 dans la fraction finale des spermatozoïdes permet de vérifier si des spermatozoïdes préparés ont été infectés par le VIH avant leur utilisation en AMP. Toutefois, il n'est plus pertinent aujourd'hui de réaliser cet acte, compte tenu de l'absence de preuve scientifique de l'infection de spermatozoïdes par le VIH et du fait que si des ADN du VIH étaient présents au sein de la fraction finale, ils seraient tout de même amplifiés par la détection d'ARN VIH. D'autre part, aucun cas de détection récente d'ADN VIH n'a été rapporté dans les centres français réalisant cet acte. Et dans ce contexte, cet acte est progressivement abandonné par les laboratoires de virologie.

En conclusion, **le service attendu de cet acte est insuffisant.**

### 3. Détection de l'ARN VIH-2 dans le sperme

La détection de l'ARN VIH-2 dans les fractions du sperme permettrait d'autoriser la prise en charge des patients VIH-2 souhaitant avoir recours à l'AMP.

Néanmoins, compte tenu :

- de l'absence de données d'efficacité publiées concernant cet acte (une étude est en cours de publication) ;
- de la taille réduite de la population cible (< 10 patients/an) ;
- de l'absence, dans un avenir proche, de techniques de détection spécifiques du VIH-2 avec des contrôles internes ;

le SA aurait pu être insuffisant. Toutefois, compte tenu que :

- la détection de l'ARN VIH-2 dans le sperme n'est pas fondamentalement différente de celle de l'ARN VIH-1 ;
- plus de 95 % des patients infectés par le VIH-2 en France sont inclus dans une cohorte de recherche clinique gérée par l'ANRS (proposant un suivi thérapeutique efficace) ;
- le groupe de travail a considéré que cet acte demeure du ressort de la recherche clinique ;
- d'un point de vue éthique, il n'est pas acceptable de discriminer les patients infectés par le VIH-1 des patients infectés par le VIH-2 lors de l'accès à l'AMP.

En conclusion, **le service attendu de cet acte est non déterminé.**