

WHO News and activities

AIDS: proposed WHO criteria for interpreting Western blot assays for HIV-1, HIV-2, and HTLV-I/HTLV-II^a

The Western blot (WB) technique is the most commonly used supplemental assay for confirming specific antibody reactivity to HIV-1, HIV-2 (human immunodeficiency virus type 1 and 2, respectively) and HTLV-I/HTLV-II (human T-cell lymphotropic virus type I and II, respectively). Since its introduction, however, there has been debate as to the suitability of the technique for routine diagnostic applications. Lack of standard procedures for preparing and using the reagents and lack of consensus about interpretation criteria have compounded the difficulties of using an assay whose results are assessed subjectively. Despite these difficulties, WB will probably remain for some time the most widely used supplemental assay for confirming seropositivity to HIV-1, HIV-2, and HTLV-I/HTLV-II.

^a Based on: Acquired immunodeficiency syndrome (AIDS): proposed WHO criteria for interpreting results from Western blot assays for HIV-1, HIV-2, and HTLV-I/HTLV-II. *Weekly epidemiological record*, 65(37): 281–283 (1990).

The WHO Global Programme on AIDS convened a meeting of experts in Geneva on 23–25 April 1990 to review the nomenclature for protein bands in WB assays (Table 1) and to propose interpretation criteria for positive, negative, and indeterminate results for HIV-1, HIV-2, and HTLV-I/HTLV-II (Table 2).

The revised criteria (i.e., at least two *env* bands) increase the specificity of the positive criteria with a slight loss of sensitivity, and also provide better discrimination between sera that show cross-reactivity to both HIV-1 and HIV-2 by WB. It should be noted that in some lots of WB reagents, the two bands of high relative molecular mass (gp 160 and gp 120) may not be sufficiently separated to appear as independent bands. In such cases the single band of high relative molecular mass must be accompanied by the transmembrane glycoprotein for the blot to be scored as positive.

The participants recommended the strategies for the follow-up of HIV-1, HIV-2, and HTLV-I/HTLV-II WB-indeterminate results shown in Table 3.

The following recommendations were also made.

- An additional blood sample from all newly

Table 1: Recommended Western blot nomenclature for major genes and gene products of HIV-1, HIV-2, and HTLV-I/HTLV-II

Gene	HIV-1		HIV-2		HTLV-I/HTLV-II	
	Gene product ^a	Description	Gene product	Description	Gene product	Description
ENV	gp160 gp120 gp41	Precursor gp External gp Transmembrane gp	gp140 gp125 ^b gp80 ^c gp36/41	Precursor gp External gp Dimeric form of transmembrane gp Transmembrane gp	gp62/68 gp46	Precursor gp Envelope gp
GAG	p55 p40 p24 p17	Precursor Precursor Core Matrix	p56 p26 p16	Precursor Core Matrix	p53 p24 p19	Precursor Core Matrix
POL	p66 p51 p32	rt rt Endonuclease	p68 p53 p34	rt rt (provisional) Endonuclease	—	—
Other	p160	<i>gag/pol</i> Precursor				

^a gp: glycoprotein; rt: reverse transcriptase.

^b Identified as gp105 by some Western blot manufacturers.

^c Visible on radio-immunoprecipitation assay (RIPA), sometimes present in Western blot. With HIV-2 a gp300 band can be detected by RIPA, not by Western blot.

Reprint No. 5155

Table 2: Proposed criteria for interpreting Western blots for HIV-1,^a HIV-2,^b and HTLV-I/HTLV-II

	HIV-1	HIV-2	HTLV-I/HTLV-II
Positive	2 <i>env</i> bands (precursor, external gp, or transmembrane gp) +/- <i>pol</i> bands +/- <i>gag</i> bands	2 <i>env</i> bands (precursor, external gp, or transmembrane gp) +/- <i>pol</i> bands +/- <i>gag</i> bands	1 <i>env</i> (precursor or envelope gp) + 1 <i>gag</i> (core or matrix)
Negative	No HIV-1 specific bands	No HIV-2 specific bands	No HTLV-I/HTLV-II-specific bands
Indeterminate	Other profiles not considered positive or negative	Other profiles not considered positive or negative	Other profiles not considered positive or negative

^a The previous WHO criteria for HIV-1 Western blot were one *env* band (gp41, gp120 or gp160) plus any other virus-specific band, or two *env* bands only (*Report of the WHO Meeting on Criteria for the Evaluation and Standardization of Diagnostic Tests for the Detection of HIV Antibody, Stockholm, 7–8 December 1987*. Unpublished document (WHO/GPA/BMR/88.1)).

^b The WHO criteria for interpreting HIV-2 Western blot were recently revised by the WHO Collaborating Group on HIV-2 (see *Weekly epidemiological record*, 65(10): 74–75 (1990)).

positives should be collected and tested to eliminate possible laboratory or sampling errors.

- A single set of definitions of positive, negative, and indeterminate results should be applied in all situations (e.g., diagnosis, seroepidemiology, or blood transfusion).
- WHO should establish a collection of monoclonal and/or monospecific antibodies against HIV-1 and HIV-2 proteins to be used for standardizing WB assays.
- The WB technology for confirming HTLV-I/HTLV-II needs to be improved. Some commercially available WB kits for HTLV-I/HTLV-II have inadequate sensitivity and specificity. Most of the WB kits are deficient in gp62/68 and gp46 antigens.
- Alternative confirmatory tests, including an immunofluorescence assay for HTLV-I/HTLV-II, should be developed and evaluated.
- Studies are needed to investigate the origin of

Table 3: Recommended follow-up for indeterminate HIV-1, HIV-2, and HTLV-I/HTLV-II Western blot results

Result	Follow-up
HIV-1:	
p17 only	It can be classified as negative; no additional follow-up is required
One <i>env</i> band with or without <i>gag/pol</i>	The assay should be repeated with the same sample, but using a different lot of reagents ^a
p24 and gp160 only	This unusual pattern may be due to early seroconversion or HIV-2 infection. The sample should be retested immediately. If the pattern repeats, a second sample should be collected 2 weeks after the first sample and tested by Western blot ^a
Other profiles	These profiles (<i>gag</i> and/or <i>pol</i> without <i>env</i>) may indicate seroconversion, HIV-2 infection, or nonspecific reactions ^a
HIV-2:	
p16 only	It can be classified as negative; no additional follow-up is required
One <i>env</i> band with or without <i>gag/pol</i>	The assay should be repeated with the same sample, but using a different lot of reagents ^a
p24 and gp140 only	This unusual pattern may be due to early seroconversion or HIV-1 infection. The sample should be retested immediately. If the pattern repeats, a second sample should be collected 2 weeks after the first sample and tested by Western blot ^a
Other profiles	These profiles (<i>gag</i> and/or <i>pol</i> without <i>env</i>) may indicate seroconversion, HIV-1 infection, or nonspecific reactions ^a
HTLV-I/HTLV-II	Indeterminate Western blot results may be resolved with a radio-immunoprecipitation assay (RIPA), which is known to be more sensitive in detecting antibody to <i>env</i> proteins. However, a RIPA is difficult and expensive and is carried out in only a few laboratories

^a These persons should be serially tested for at least 6 months. Radio-immunoprecipitation assay is more sensitive in detecting antibody to *env* proteins and could be used, if available, to further characterize indeterminate Western blot profiles. A person whose Western blot results continue to be consistently indeterminate for at least 6 months—in the absence of any known risk factors, clinical symptoms, or other findings—may be considered negative for antibodies to HIV-1 or HIV-2. For blood donation, the re-entry criteria of Western blot indeterminate donors must be determined by the regulatory authorities within each country.

WB-indeterminate results.

- Confirmatory tests for HTLV-I/HTLV-II should be capable of detecting antibodies to both *gag* (p53, p24 and p19) and *env* (gp62/68 and gp46) products.
- Serum, plasma, and lymphocyte samples from clinically, epidemiologically, and virologically characterized HTLV-I/HTLV-II patients should be collected and stored. These materials should be used as reference reagents for the evaluation of existing and new diagnostic tests for HTLV-I/HTLV-II.
- The interpretation criteria for HIV-1, HIV-2 and HTLV-I/HTLV-II should be reviewed regularly to assure their sensitivity and specificity.

Evaluation of rational drug therapy in Yemen^b

Over the last 5 years, many governments have established national drug policies in order to improve the availability and effective prescription of essential drugs. In most developing countries such policies have placed greater emphasis on improving the supply rather than the prescription of drugs, although it is not clear what effect such efforts have had on improving rational drug therapy.

In Democratic Yemen a national essential drugs programme was set up in 1984.^c Special attention has been given to improving the availability and prescribing of drugs, particularly at rural health units. For this purpose, kits of 30 drugs are regularly supplied to these units. The quantities of each drug were determined by calculating the amounts required to treat 750 patients who present with the typical morbidity pattern seen at such units. Standard treatment schedules were agreed by the Ministry of Health for 53 representative conditions and these specified the preferred drugs to be prescribed along with the dosage, route of administration, and duration of the course. Health personnel working in the units were each given a copy of the standard treatment schedules and most attended a week's training course on their correct use.

Hospitals and health centres in Democratic

Yemen can only order drugs that are on the national drug list, and doctors and medical assistants in these institutions have received instruction on the correct use of the standard treatment schedules and reasonable prescribing practices.

An evaluation of the essential drugs programme in Democratic Yemen was undertaken in March 1988, including an assessment of the extent to which the programme has affected the availability and rational prescription of drugs. A random sample of health units (19 out of 122) was first selected from the two governorates in the country that were implementing the essential drugs programme at that time and from one adjacent control governorate (7 out of 58 units). To ensure that health units were included from the two main topographical areas of the country (the relatively accessible desert and the less accessible mountainous parts), the health units were stratified and then selected at random. Two complementary methods were used to examine the rational prescription of drugs. In the first approach, the theoretical knowledge of the health workers on issues related to prescriptions for different groups of patients and categories of conditions was assessed by interviewing all the workers at the 26 study centres.

The second approach probed actual prescription of drugs by reviewing the patient attendance registers at the health units and by calculating the total number of drugs prescribed for the previous 100 consultations. These data were then compared with the number that would have been expected had the standard treatment schedules been followed consistently. The prescribing practices for the following tracer conditions were also reviewed at selected hospitals and health centres: hypertension, osteoarthritis/chronic joint pains, upper respiratory tract infections, and urinary tract infections.

Results

The health workers at units covered by the programme had significantly ($P < 0.05$) higher levels of knowledge about rational drug therapy compared with workers in units that were not yet included. Also, in the programme area far smaller proportions of patients received antibiotics (45% versus 67%) and injections (25% versus 58%), and on average they were given fewer drugs per prescription (1.5 versus 2.4). These indicators were, however, higher than would have been expected had standard treatment schedules been followed consistently. In certain respects, the drug therapy received by outpatients at hospitals or health centres was worse than that received by the patients who attended health units. For example, over two-thirds of outpatients with hypertension were prescribed methyl-

^b Based on: Walker G.J.A. et al. Evaluation of rational drug therapy in Democratic Yemen. *Social science and medicine*, 31: 823-828 (1990).

^c On 22 May 1990, the former states of Yemen Arab Republic and Democratic Yemen merged to form a single sovereign state called Yemen. The present study was carried out prior to this date, and hence the former names have been used here.

Notes et activités OMS

SIDA: critères proposés par l'OMS pour l'interprétation des épreuves d'immunotransfert concernant les virus VIH-1, VIH-2 et HTLV-I/HTLV-II^a

La technique d'immunotransfert (Western blot ou WB) est maintenant la méthode la plus utilisée pour confirmer la présence d'anticorps dirigés contre les virus VIH-1, VIH-2 (virus de l'immunodéficience humaine types 1 et 2 respectivement) et HTLV-I/HTLV-II (human T-cell lymphotropic virus types I et II respectivement). Mais depuis son introduction on se pose la question de savoir si cette technique se prête à une application en routine. Le fait que les procédés de préparation et le mode d'emploi des réactifs ne soient pas standardisés et l'absence de consensus sur les critères d'interprétation compliquent encore l'utilisation d'un test dont les résultats

sont évalués de façon subjective. En dépit de ces difficultés, il est probable que le WB restera quelque temps encore le test le plus utilisé pour confirmer la séropositivité VIH-1, VIH-2 et HTLV-I/HTLV-II.

Le Programme mondial OMS de lutte contre le SIDA a réuni du 23 au 25 avril 1990 à Genève un groupe d'experts pour réviser la nomenclature des bandes de protéines du WB (tableau 1) et proposer des critères d'interprétation des résultats (positif, négatif et indéterminé) pour les virus VIH-1, VIH-2 et HTLV-I/HTLV-II (tableau 2).

Les critères révisés (à savoir au moins deux bandes *env*) se traduisent par une plus grande spécificité des résultats positifs, accompagnée d'une légère perte de sensibilité; ils assurent aussi une meilleure discrimination entre les sérums présentant une réactivité croisée à l'égard du VIH-1 et du VIH-2 dans l'épreuve WB. Il est à noter qu'avec certains lots de réactifs WB, les deux bandes de masse moléculaire relative élevée (gp 160 et gp 120) sont parfois mal séparées. Dans de tels cas, pour que l'épreuve soit déclarée positive, la bande unique de

^a D'après: Syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA): Critères proposés par l'OMS pour l'interprétation des résultats de la sérologie VIH-1, VIH-2, et HTLV-I/HTLV-II par immunotransfert. *Relevé épidémiologique hebdomadaire*, 65(37): 281-283 (1990).

Tableau 1: Nomenclature recommandée pour les principaux gènes et produits géniques de VIH-1, VIH-2 et HTLV-I/HTLV-II identifiés par Western blot

Gène	VIH-1		VIH-2		HTLV-I/HTLV-II	
	Produits géniques ^a	Description	Produits géniques	Description	Produits géniques	Description
ENV	gp160 gp120 gp41	gp précurseur gp externe gp transmembranaire	gp140 gp125 ^b gp80 ^c gp36/41	gp précurseur gp externe dimère de gp transmembranaire gp transmembranaire	gp62/68 gp46	gp précurseur gp d'enveloppe
GAG	p55 p40 p24 p17	précurseur précurseur nucléoïde matrice	p56 p26 p16	précurseur nucléoïde matrice	p53 p24 p19	précurseur nucléoïde matrice
POL	p66 p51 p32	rt rt endonucléase	p68 p53 p34	rt rt (provisoire) endonucléase	—	—
Autre	p160	précurseur <i>gag/pol</i>				

^a gp: glycoprotéine; rt: transcriptase inverse (reverse transcriptase).

^b Appelé gp105 par certains fabricants de trousse Western blot.

^c Visible en radio-immunoprécipitation (RIPA), parfois présente en Western blot. Avec le VIH-2, une bande gp300 peut être détectée par RIPA, mais non par Western blot.

N° de tiré à part: 5156

Tableau 2: Critères proposés pour l'interprétation des résultats du Western blot pour les virus VIH-1,^a VIH-2^b et HTLV-I/HTLV-II

	VIH-1	VIH-2	HTLV-I/HTLV-II
Positif	2 bandes <i>env</i> (précurseur, gp externe ou gp transmembranaire) +/- bandes <i>pol</i> +/- bandes <i>gag</i>	2 bandes <i>env</i> (précurseur, gp externe ou gp transmembranaire) +/- bandes <i>pol</i> +/- bandes <i>gag</i>	1 bande <i>env</i> (précurseur ou gp d'enveloppe) + 1 <i>gag</i> (nucléotide ou matrice)
Négatif	Pas de bandes spécifiques du VIH-1	Pas de bandes spécifiques du VIH-2	Pas de bandes spécifiques du HTLV-I/HTLV-II
Indéterminé	Profil ne pouvant être qualifiés de positifs ou de négatifs	Profil ne pouvant être qualifiés de positifs ou de négatifs	Profil ne pouvant être qualifiés de positifs ou de négatifs

^a Les précédents critères OMS pour la détection du VIH-1 par Western blot étaient: une bande *env* (gp41, gp120 ou gp160) plus une autre bande spécifique du virus ou deux bandes *env* seulement (WHO/GPA/BMR/88.1).

^b Les critères OMS pour l'interprétation des résultats des tests Western blot pour le VIH-2 ont été révisés récemment par le groupe de collaborateurs de l'OMS sur le VIH-2 (voir *Relevé épidémiologique hebdomadaire*, 65(10): 74–75 (1990)).

Tableau 3: Mesures de suivi recommandées en cas de résultat indéterminé en Western blot pour VIH-1, VIH-2 et HTLV-I/HTLV-II

Résultat	Suivi
VIH-1	
p17 seulement	L'épreuve peut être considérée comme négative. Aucune autre mesure n'est nécessaire.
Une bande <i>env</i> avec ou sans bande <i>gag/pol</i>	Répéter l'épreuve sur le même prélèvement, mais avec un lot de réactifs différents. ^a
p24 et gp160 seulement	Ce profil inhabituel peut être dû à une séroconversion précoce ou à une infection par le VIH-2. Répéter immédiatement l'épreuve sur le même prélèvement. Si le profil est identique, effectuer un deuxième prélèvement 2 semaines après le premier et répéter le WB. ^a
Autres profils	Ces profils (<i>gag</i> et/ou <i>pol</i> sans <i>env</i>) peuvent indiquer une séroconversion, une infection à VIH-2 ou des réactions non spécifiques. ^a
VIH-2	
p16 seulement	L'épreuve peut être considérée comme négative. Aucune autre mesure n'est nécessaire.
Une bande <i>env</i> avec ou sans bande <i>gag/pol</i>	Répéter l'épreuve sur le même prélèvement, mais avec un lot de réactifs différents. ^a
p26 et gp140 seulement	Ce profil inhabituel peut être dû à une séroconversion précoce ou à une infection par le VIH-1. Répéter immédiatement l'épreuve sur le même prélèvement. Si le profil est identique, effectuer un deuxième prélèvement 2 semaines après le premier et répéter le WB. ^a
Autres profils	Ces profils (<i>gag</i> et/ou <i>pol</i> sans <i>env</i>) peuvent indiquer une séroconversion, une infection à VIH-1 ou des réactions non spécifiques. ^a
HTLV-I/HTLV-II	Si le WB donne des résultats indéterminés, l'indétermination peut être levée par la technique RIPA, plus sensible à l'égard des anticorps dirigés contre les protéines <i>env</i> . Cependant, cette technique est délicate et coûteuse et n'est pratiquée que dans quelques laboratoires.

^a Ces personnes devront être soumises à des examens répétés pendant au moins 6 mois. La radio-immunoprécipitation (RIPA) est plus sensible pour détecter les anticorps dirigés contre les protéines *env* et pourrait être utilisée, si elle est disponible, pour lever l'indétermination des profils en Western blot. Une personne dont les résultats en Western blot restent constamment indéterminés pendant au moins 6 mois—en l'absence de tout facteur de risque connu, de symptômes cliniques ou d'autres éléments de diagnostic—peut être considérée comme séronégative pour le VIH-1 ou le VIH-2. En ce qui concerne les dons de sang, les critères de réadmission des donneurs dont le Western blot est indéterminé doivent être établis par les autorités de réglementation de chaque pays.

masse moléculaire relative élevée doit être accompagnée d'une bande correspondant à la glycoprotéine transmembranaire.

Pour le suivi des personnes chez lesquelles le WB a donné un résultat indéterminé pour VIH-1, VIH-2 et HTLV-I/HTLV-II, les participants ont recommandé les stratégies exposées au tableau 3.

Ils ont en outre formulé les recommandations suivantes:

- Il faudrait, chez tous les nouveaux séropositifs, effectuer un prélèvement de sang supplémentaire et l'analyser pour éliminer toute possibilité d'erreur de laboratoire ou d'échantillonnage.

- Les critères servant à établir si un résultat est positif, négatif ou indéterminé devraient être les mêmes dans toutes les situations (par exemple diagnostic, séro-épidémiologie, transfusion sanguine).
- En vue de standardiser les épreuves WB, l'OMS devrait établir une collection d'anticorps monoclonaux et/ou monospécifiques dirigés contre les protéines du VIH-1 et du VIH-2.
- Il est nécessaire d'améliorer la technique WB pour la confirmation des tests de dépistage des virus HTLV-I/HTLV-II. Certaines troupes disponibles à cette fin dans le commerce laissent à désirer aussi bien sur le plan de la sensibilité que sur celui de la spécificité. La plupart des troupes WB contiennent une quantité insuffisante d'antigènes gp62/68 et gp46.
- D'autres épreuves de confirmation, notamment une épreuve d'immunofluorescence pour HTLV-I/HTLV-II, devraient être mises au point et évaluées.
- Il faut entreprendre des études pour rechercher l'origine des résultats indéterminés obtenus par WB.
- Les épreuves de confirmation de la séropositivité pour HTLV-I/HTLV-II devraient pouvoir détecter les anticorps dirigés aussi bien contre les produits *gag* (p53, p24 et p19) que *env* (gp62/68 et gp46).
- Il faudrait effectuer et conserver des prélèvements de sérum, de plasma et de lymphocytes sur des patients chez lesquels la présence de HTLV-I/HTLV-II a été caractérisée par des moyens cliniques, épidémiologiques et virologiques. Ces prélèvements devraient être utilisés comme réactifs de référence pour l'évaluation des méthodes actuelles et futures de dépistage des virus HTLV-I/HTLV-II.
- Les critères d'interprétation des tests de dépistage des virus VIH-1, VIH-2 et HTLV-I/HTLV-II devraient être révisés régulièrement afin d'assurer leur sensibilité et leur spécificité.

Evaluation de la rationalité des traitements pharmacothérapeutiques au Yémen^b

Au cours des cinq dernières années, de nombreux gouvernements ont mis en place des politiques pharmaceutiques nationales en vue d'améliorer la disponibilité des médicaments essentiels et d'en favoriser la prescription efficace. Dans la plupart des

pays en développement, on a insisté sur les approvisionnements plus que sur les pratiques de prescription – bien que l'on ne voie pas très bien comment cela pourrait permettre de rationaliser les traitements.

Le Yémen démocratique^c a institué en 1984 un programme de médicaments essentiels s'attachant spécialement à améliorer la disponibilité et la prescription des médicaments, dans les postes de santé ruraux en particulier. Ces postes ont reçu régulièrement des troupes contenant 30 médicaments, dont l'assortiment et les quantités devaient permettre de traiter 750 patients offrant le tableau de morbidité qui y est typiquement vu. Le Ministère de la Santé a donné son agrément à des plans de traitement standard pour 53 maladies de l'enfant ou de l'adulte, spécifiant les médicaments à prescrire de préférence, les doses, la voie d'administration et la durée du traitement. Chacun des agents affectés dans ces postes a reçu un exemplaire des plans de traitement standard, et la plupart ont suivi un cours d'une semaine sur leur application.

Au Yémen démocratique, les hôpitaux et les centres de santé ne peuvent commander que les médicaments qui figurent sur la liste nationale. Les médecins et les assistants médicaux de ces institutions ont bénéficié d'un enseignement sur l'utilisation correcte des plans de traitement standard et les prescriptions rationnelles.

Le pays a entrepris en mars 1988 une évaluation du programme des médicaments essentiels, comportant une appréciation du retentissement du programme sur la disponibilité des médicaments et leur prescription rationnelle. On a tout d'abord constitué un échantillon en choisissant aléatoirement 19 postes de santé sur les 122 que comptaient les deux gouvernorats où était appliqué à l'époque le programme des médicaments essentiels, et un échantillon témoin composé de 7 des 58 postes de santé d'un gouvernorat voisin. Pour être sûr que les deux principales zones géographiques du pays – le désert, relativement accessible, et les régions montagneuses, plus difficiles d'accès – se trouvaient bien représentées, les postes de santé avaient été stratifiés avant d'être tirés au sort. Deux méthodes complémentaires ont été utilisées pour l'étude de la prescription rationnelle des médicaments. Dans la première, les connaissances théoriques des agents de santé sur les prescriptions applicables à différents groupes de patients et pour différentes maladies ont

^b D'après: Walker G.J.A., et al. Evaluation of rational drug therapy in Democratic Yemen. *Social science and medicine*, 31: 823–828 (1990).

^c La République arabe du Yémen et le Yémen démocratique ont fusionné le 22 mai 1990 pour constituer un seul Etat souverain appelé Yémen. La présente étude ayant été réalisée antérieurement à la fusion des deux Etats, on a conservé ici les dénominations en vigueur à l'époque.