

[15] Cazein F, Pillonel J, Bousquet V, Imouga L, Le Vu S, Le Strat Y, *et al.* Caractéristiques des personnes diagnostiquées avec une infection à VIH ou un sida, France, 2008. BEHWeb 2009(2). Disponible à : <http://www.invs.sante.fr/behweb/2009/02/r-2.htm>

[16] Fleiss J. Statistical methods for rates and proportions. 2nd Ed. New York: John Wiley; 1981. 321 p.

[17] Sanchez AM, Schreiber GB, Nass CC, Glynn S, Kessler D, Hirschler N, *et al.* The impact of male-to-male sexual experience on risk profiles of blood donors. Transfusion. 2005;45(3):404-13.

[18] Pillonel J, Barin F, Laperche S, Bernillon P, Le Vu S, Brunet S, *et al.* Human immunodeficiency virus type 1 incidence among blood donors in France, 1992 through

2006: use of an immunoassay to identify recent infections. Transfusion. 2008;48(8):1567-75.

[19] Advisory Committee on the Safety of Blood, Tissues and Organs (SaBTO). Donor Selection Criteria Review (April 2011). Disponible à : http://www.dh.gov.uk/en/Publicationsandstatistics/Publications/PublicationsPolicyAndGuidance/DH_129796?ssSourceSiteId=ab

La surveillance de la diversité des virus VIH, VHB et VHC chez les donneurs de sang français entre 2000 et 2010

Syria Laperche (slaperche@invs.fr)¹, Annabelle Servant-Delmas¹, Pierre Gallian², Josiane Pillonel³

1/ Laboratoire de référence associé au Centre national de référence VIH et au Centre national de référence des virus des hépatites B, C et Delta, Institut national de la transfusion sanguine, Paris, France
2/ Établissement français du sang, Saint-Denis, France
3/ Institut de veille sanitaire, Saint-Maurice, France

Résumé / Abstract

Introduction – La surveillance de la diversité des virus VIH, VHB et VHC chez les donneurs de sang (DS) s'opère au sein du laboratoire associé aux centres nationaux de référence (CNR) des hépatites B et C et du VIH à l'Institut national de la transfusion sanguine (INTS). La période d'étude s'étend de 2000 à 2010.

Méthodes – Les échantillons plasmatiques provenant de tous les DS infectés par les virus considérés sont centralisés à l'INTS. Les charges virales plasmatiques, le génotypage par séquençage de diverses régions génomiques ainsi qu'un phénotypage par détermination de sérotypes sont les principaux outils de caractérisation virale utilisés.

Résultats – La proportion de sérotypes VIH-1 groupe M non-B a augmenté régulièrement pour dépasser 30% sur la période 2007-2010. Le génotype VIH-1 majoritaire est le génotype B (66,7%), suivi du génotype CRF02_AG (19,0%). La répartition des génotypes du VHB est la suivante : D (42,4%), A (27,2%), E (16,8%), B (6,3%), C (6,5%) et F (0,7%). Le génotype A1, d'origine africaine, est plus fréquent aux Antilles. Le plus fréquent des génotypes du VHC est le génotype 1 (57,4%), (51,2% 1b et 48,4% 1a), suivi par les génotypes 3 (21%), 2 (11,5%) et 4 (8,7%). Les distributions génotypiques du VHB et du VHC sont relativement stables.

Conclusion – Les génotypes infectant les DS les plus fréquents sont : le génotype B pour le VIH, le génotype D pour le VHB et le génotype 1b pour le VHC, avec une évolution génotypique essentiellement marquée, pour le VIH, par une augmentation des souches non-B. Ces observations sont en rapport avec la diffusion de ces virus dans la population française et les facteurs de risque identifiés chez les sujets étudiés.

Surveillance of HIV, HBV and HCV viral diversity in the French blood donor population, 2000 to 2010

Introduction – Surveillance of HIV, HBV, HCV viral diversity in French blood donor (BD) population is performed at the national reference laboratory for the study of HIV, HBV and HCV in transfusion at the National Blood Transfusion Center (INTS). The study period spans over 11 years from 2000 to 2010.

Methods – Plasma samples from all HIV, HBV or HCV positive BD are centralized at INTS for further investigations as: viral load determination, genotyping by sequencing of several viral genomic regions and serotyping.

Results – For HIV, HIV-1 group M non-B serotypes have regularly increased to reach more than 30% in the 2007-2010 study period. The most frequent genotype is genotype B (66.7%) followed by CRF02_AG (19.0%). HBV genotypes are globally distributed as follows: D (42.4%), A (27.2%), E (16.8%), B (6.3%), C (6.5%) and F (0.7%). A1 genotype, originated from Africa, is significantly most frequent in the West Indies. Regarding HCV, the highest proportion was observed for genotype 1 (57.4%), (51.2% 1b et 48.4% 1a), then for genotypes 3 (21%), 2 (11.5%) and 4 (8.7%). HBV and HCV genotype distributions were relatively stable over time.

Conclusion – The most identified genotypes in BDs were genotype B for HIV, D for HBV and 1b for HCV. Trends of viral diversity were especially marked in this study for HIV with an increase of non-B strains. Viral genetic variant distribution in BD was similar to that seen in the French general population and was in relationship with risk factors identified in investigated subjects.

Mots-clés / Keywords

Donneurs de sang, VIH, VHB, VHC, diversité virale, France / Blood donors, HIV, HBV, HCV, viral diversity, France

Introduction

Parmi les missions confiées aux centres nationaux de référence (CNR) des virus des hépatites B (VHB), C (VHC) et Delta, et du virus de l'immunodéficience humaine (VIH), figure celle d'assurer la surveillance de la diversité de ces virus, notamment dans la population des donneurs de sang. Cette surveillance virologique vient en complément de la surveillance épidémiologique réalisée depuis 1985 dans cette population (voir l'article de J. Pillonel et coll., p. 438 de ce numéro). Elle est exhaustive et s'opère au

travers d'une étroite collaboration entre l'Institut de veille sanitaire (InVS), l'Établissement français du sang (EFS), le Centre de transfusion des armées (CTSA), l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM) et l'Institut national de la transfusion sanguine (INTS), lequel abrite le laboratoire de référence pour les aspects transfusionnels liés à ces virus. L'objectif de cette surveillance est non seulement de déterminer la nature de la diversité des souches virales circulant chez les donneurs de sang, mais également d'en évaluer la dynamique.

Matériel et méthodes

Matériel

Les échantillons plasmatiques provenant de tous les donneurs infectés par l'un de ces virus (VIH, VHB, VHC), prélevés en France métropolitaine et dans les départements d'outre-mer (DOM), sont centralisés à l'INTS depuis 2000 (2006 pour les DOM). Leur acheminement depuis la plasmathèque de l'EFS est régi par un arrêté du 6 février 2009, paru au journal officiel le 19 février 2009. Chaque échantillon s'accompagne d'un numéro d'identification permettant

d'accéder aux données épidémiologiques du donneur concerné.

Sur la période 2000-2010, le laboratoire a reçu 364 (94,6%) échantillons des 385 donneurs confirmés VIH positifs en France métropolitaine de 2000 à 2005, et de la France entière à partir de 2006. Sur cette même période, 3 505 (84,2%) échantillons des 4 160 donneurs confirmés Ag HBs positifs, dont 55 (41%) des 134 dons prélevés aux Antilles dans la période 2006-2010, et 2 160 (79,2%) échantillons des 2725 donneurs positifs pour le VHC, ont également été reçus.

Méthodes d'étude du VIH

La détermination de la charge virale (CV) plasmatique, réalisée rétrospectivement pour la période 2000 à 2003, et prospectivement à partir des dons de 2004, utilise une méthode (Cobas Taq Man HIV, Roche Diagnostics, Meylan, France) dont le seuil de quantification est de 40 copies/ml.

L'étude de la diversité virale est basée sur une technique de sérotypage des anticorps dirigés contre la glycoprotéine d'enveloppe gp120 du virus [1]. Cette méthode est essentiellement utilisée pour différencier les sous-types B des non-B. Depuis 2004, le séquençage de plusieurs fragments génomiques codant l'enveloppe virale, la transcriptase inverse (pol-RT) et la protéase (pol-prot) est également réalisé selon les protocoles adoptés par l'ensemble des laboratoires du CNR.

Méthodes d'étude du VHB

La détermination de la charge virale plasmatique est réalisée depuis 2005 avec une limite de quantification de 6 UI/ml (Cobas Taq Man HBV, Roche Diagnostics).

La diversité virale est analysée, d'une part, par la détermination du sérotype de l'Ag HBs grâce à un test immuno-enzymatique basé sur l'utilisation d'anticorps monoclonaux de spécificité restreinte [2] et, d'autre part, par l'analyse phylogénique d'une région du génome des souches virales venue compléter le sérotypage en 2005 [3].

Méthodes d'étude du VHC

La quantification de l'ARN plasmatique est pratiquée avec une limite de quantification de 25 UI/ml (Cobas Taqman HCV, Roche Diagnostics).

Le génotype est déterminé sur chaque échantillon virémique par hybridation inverse [4] ou par séquençage d'un fragment d'environ 300 paires de bases de la région non structurale NS5b [5].

Les échantillons non virémiques bénéficient d'un sérotype par détermination de la spécificité des anticorps anti-NS4 [6].

Les analyses statistiques ont été réalisées grâce au test exact de Fischer : une différence a été considérée comme significative dès lors que $p < 0,05$.

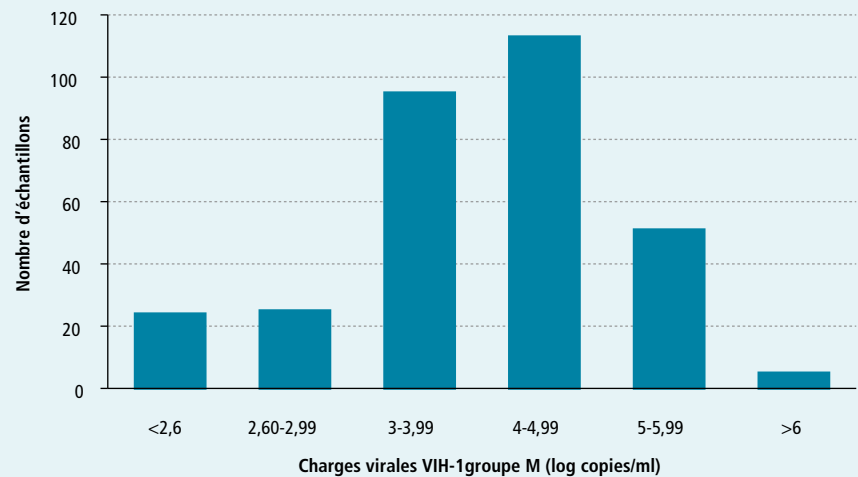
Résultats

Le VIH

Parmi les 364 donneurs VIH positifs étudiés sur la période 2000-2010, 3 étaient VIH-2 positifs (0,8%) et 1 était VIH-1 de groupe O.

Sur les 361 échantillons VIH-1 de groupe M reçus, 313 (86,7%) ont bénéficié d'une détermination de la CV

Figure 1 Répartition des charges virales VIH-1 groupe M (log copies/ml) chez les donneurs de sang sur la période 2000-2010, France / Figure 1 Distribution of HIV-1M group viral loads (log copies/ml) in blood donors from 2000 through 2010, France



plasmatique dont la figure 1 fournit la répartition. Sur la période 2004-2010, la moyenne des charges virales est de 3,99 +/- 0,999 log copies/ml pour l'ensemble des échantillons et de 4,19 +/- 0,839 log copies/ml pour les échantillons génotypés. La CV moyenne des génotypes CRF02_AG est plus élevée (4,45 +/- 0,954 log copies/ml) que celle des génotypes B (4,13 +/- 0,809 log copies/ml) ($p=0,04$).

Parmi les 24 donneurs de sang avec une CV inférieure à 2,6 log copies/ml, 21 avaient été testés pour l'ARN lors du don. Six d'entre eux, dont les CV s'échelonnaient entre 11 et 50 copies/ml, n'avaient pas été détectés par le dépistage génomique viral (DGV). Par ailleurs, 4 de ces 21 donneurs ne présentaient pas d'anticorps et se situaient en phase précoce de l'infection.

La proportion de sérotypes non-B s'est régulièrement accrue entre 1985 (4,4%) [7] et 2007 (31%) pour se stabiliser ensuite. La répartition des génotypes obtenus par séquençage entre 2004 et 2010 sur les 210 VIH-1 analysés est la suivante : 66,7% de génotypes B, 19,0% de CRF02_AG, 4,3% de C,

2,9% de F, 1,9% de G, 1% de CRF01_AE, CRF12_BF et CRF13_cpx respectivement, 0,5% de D, CRF06_cpx, CRF28_BF et Groupe O respectivement. On note par ailleurs une relative stabilité des proportions des différents génotypes (non montrée) avec toutefois une tendance à l'augmentation du génotype B en 2009 et 2010, qui devra être confirmée ultérieurement.

Parmi les 161 sujets VIH-1 (103 génotypes B, 31 génotypes CRF02_AG, 27 autres) ayant bénéficié du test d'infection récente [8], 41,7% des B, 38,7% des CRF02_AG et 55,5% des autres génotypes étaient infectés depuis moins de 6 mois (différence non significative).

Le type viral est associé à l'origine géographique comme le montre le tableau 1 : 74,0% des donneurs originaires d'Europe occidentale étaient infectés par une souche de génotype B, alors que 84,2% des donneurs originaires d'un pays d'Afrique subsaharienne l'étaient par une souche non-B. De plus, parmi les donneurs originaires de France ou d'autres pays d'Europe, ceux ayant eu un partenaire originaire

Tableau 1 Répartition des VIH-1 en sous-types B et non-B selon l'origine géographique des donneurs de sang sur la période 2000-2010, France / Table 1 Distribution of B and non-B subtypes HIV-1 according to the geographical origin of blood donors from 2000 through 2010, France

Origine géographique	Facteurs de risque	Sous-type B N (%)	Sous-type non-B N (%)	p*
France/Europe		188 (74,0)	66 (26,0)	0,01
	HSH ⁽¹⁾ /bisexuels	52 (85,2)	9 (14,8)	0,02
	UDI ⁽²⁾ et partenaires d'UDI	4 (80,0)	1 (20,0)	NS
	Hétérosexuels partenaires d'Africains	8 (30,8)	18 (69,2)	< 10 ⁻⁴
	Hétérosexuels autres partenaires	84 (78,5)	23 (21,5)	NS
	Transfusés	1 (100)	0	NS
	Inconnu/donneurs non revus	39 (72,2)	15 (27,8)	NS
Afrique subsaharienne		3 (15,8)	16 (84,2)	< 10 ⁻⁴
Afrique du Nord		7 (77,8)	2 (22,2)	NS
Autre		15 (93,8)	1 (6,3)	NS
Inconnu		6 (54,5)	5 (45,5)	NS
Total		219 (70,9)	90 (29,1)	

* Test exact de Fischer.

¹ HSM : hommes ayant eu des relations sexuelles avec des hommes ; ² UDI : usagers de drogues par voie intraveineuse.

d'un pays d'Afrique subsaharienne étaient plus souvent infectés par une souche non-B (69,2%) que les donneurs ayant un autre facteur de risque (21,1%).

Le VHB

Parmi les 2 997 dons VHB positifs étudiés avec succès sur la période 2000-2010, le sous-type *ayw2* (correspondant au génotype D, fortement prévalent dans le bassin méditerranéen) était le plus fréquent (34,3%), suivi du sous-type *adw2* (génotype A ou B, majoritaire en Europe occidentale) (25,2%). Les sous-types *ayw1* (génotype A, Afrique, ou B, Asie), *ayw4* (génotype E originaire d'Afrique subsaharienne) et *adr* (génotype C, asiatique) étaient en proportions respectives de 10,7%, 16,0% et 7,4%. Toutefois, une évolution des sous-types a été observée jusqu'en 2005 (figure 2), puisque l'on note une diminution significative ($p=0,004$) des souches *adw2* et *ayw3* ($p=0,001$) et une augmentation des souches *ayw4* ($p<10^{-4}$). Depuis 2005, une relative stabilisation des proportions est observée avec toutefois des fluctuations telles qu'une baisse des sous-types *ayw2* au profit des *ayw4*.

Une analyse moléculaire a été réalisée avec succès sur 1 575 dons Ag HBs positifs et/ou ADN positifs collectés entre 2005 et 2010. On note une prévalence globale plus élevée du génotype D (42,4%), suivie des génotypes A (27,2%) et E (16,8%) puis des génotypes B (6,3%), C (6,5%) et F (0,7%). La figure 3, montre que la proportion des génotypes est stable entre 2005 et 2009. En 2010, on note une diminution du génotype D (non significative) au profit des génotypes A et E.

L'origine géographique des donneurs est corrélée au génotype : 42,6% des génotypes A étaient originaires d'Europe (sous-type *adw2*) et 31,6% d'Afrique (sous-type *ayw1*), 59,6% des B et 56,9% des C étaient originaires d'Asie, 38,8% des D du bassin méditerranéen et 75,1% des E d'Afrique subsaharienne.

La comparaison des génotypes isolés chez les donneurs ayant fait un don aux Antilles (41% des 134 ayant donné dans la période) et chez ceux ayant donné en métropole entre 2005 et 2010 et à la Réunion entre 2008 et 2010, montre une prévalence plus élevée du génotype A aux Antilles (75% des souches contre 27,2%, $p<10^{-4}$). Parmi ceux-ci, 68,3% ($n=28$) sont des souches A1, décrites comme étant originaires d'Afrique et 17,1% ($n=7$) sont des souches A2, d'origine européenne.

Le tableau 2 montre que la CV moyenne était de 3,12 +/- 1,84 log UI/ml. Toutefois, les CV les plus élevées étaient observées pour les génotypes B (4,5 +/- 2,65 log UI/ml) et C (4,09 +/- 2,46 log UI/ml) ($p<10^{-3}$).

Le VHC

Du 1^{er} juillet 2001, date de la mise en place du dépistage génomique viral (DGV), jusqu'au 31 décembre 2010, la proportion de dons virémiques parmi les sujets VHC positifs était globalement de 71,0%, avec toutefois une baisse significative ($p<10^{-4}$) entre 2003 et 2006 ; la baisse observée entre 2008 et 2010 n'est pas significative (figure 4). Aucune différence dans les caractéristiques démographiques et épidémiologiques entre le

Figure 2 Évolution de la part relative (en %) des sous-types de l'Ag HBs chez les donneurs de sang entre 2000 et 2010, France (incluant les Antilles depuis 2006 et la Réunion depuis 2008) / Figure 2 Trends in HBsAg serotype distribution (%) in blood donors from 2000 through 2010, France (including the French West Indies and Reunion Island, from 2006 and 2008, respectively)

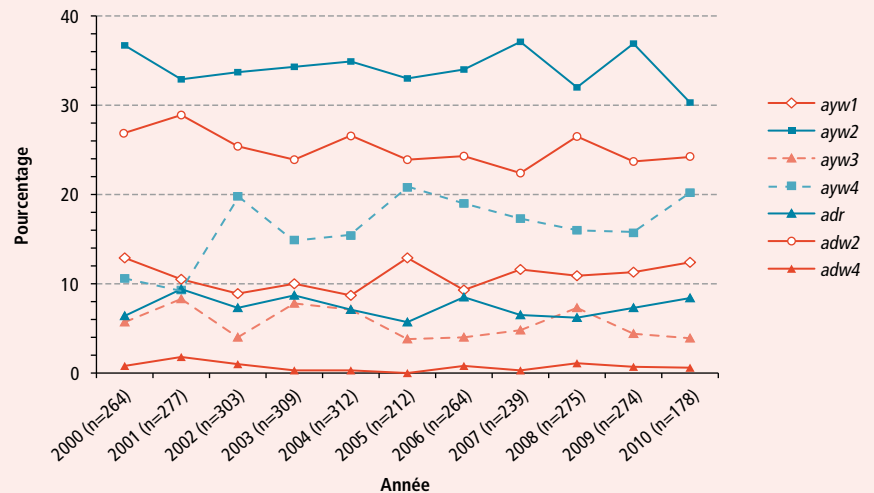


Figure 3 Évolution des proportions (en %) des différents génotypes du VHB chez les donneurs de sang infectés par le VHB entre 2005 et 2010, France / Figure 3 Trends in HBV genotype distribution (%) in blood donors from 2005 through 2010, France

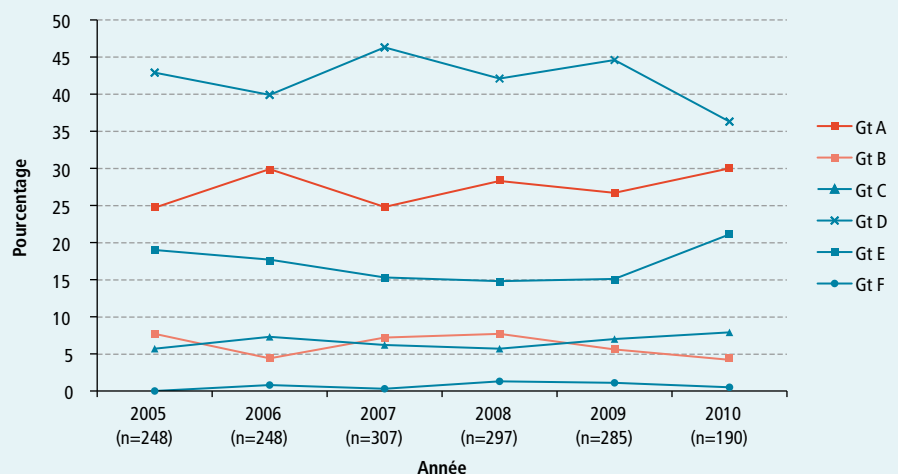


Tableau 2 Répartition des donneurs de sang virémiques pour le VHB par tranche de charge virale (CV) et par génotype (Gen) sur la période 2005-2010, France / Table 2 Distribution of HBV-DNA positive blood donors according to the viral loads (CV) and genotype (Gen) from 2005 through 2010, France

CV (log UI/ml)	Gen A (N=416)	Gen B (N=96)	Gen C (N=100)	Gen D (N=649)	Gen E (N=255)	Gen F (N=11)	Non typables (N=159)	Total (N=1 686)
<2	22,1	21,9	23,3	22,2	16,1	9,1	62,9	25,0
2-2,99	32,5	15,6	19,3	34,5	28,2	36,4	17,0	29,4
3-3,99	28,1	16,7	17,2	28,5	36,1	9,1	12,6	26,6
4-5,99	10,8	12,5	13,9	8,5	12,2	36,4	3,8	9,9
≥6	6,5	33,3	26,3	6,3	7,5	9,1	3,8	9,1
Moyenne*	3,07	4,5	4,09	3,03	3,35	3,85	1,81	3,12
Écart-type	1,63	2,65	2,46	1,59	1,57	1,85	1,64	1,84

* Différence significative ($p<10^{-3}$) entre génotypes B et C d'une part et les autres d'autre part (Gen F et non typables exclus).

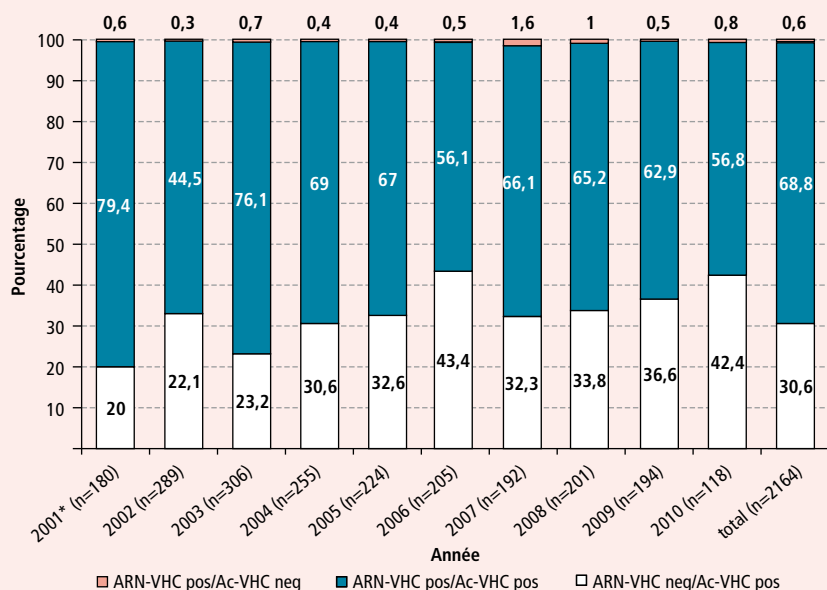
groupe des donneurs virémiques et celui des non virémiques n'a pu être mise en évidence pour expliquer ce phénomène.

Une différence significative ($p<10^{-4}$) entre les charges virales en fonction des génotypes a été

observée : les génotypes 1 (1a et 1b) et 2 regroupés avaient une charge virale moyenne plus élevée que les génotypes 3 et 4 ($p<10^{-4}$) (tableau 3).

Sur les 1 796 donneurs trouvés ARN VHC positifs entre 2000 et 2010, 1 644 (91,5%) ont bénéficié

Figure 4 Répartition (en %) des donneurs infectés par le VHC entre 2001 (semestre 2 : début du DGV-VHC) et 2010 en fonction de la virémie (n=2 164), France / Figure 4 Distribution (%) of HCV positive blood donors according to the viremia from 2001 (semester 2: HCV-NAT implementation) through 2010 (n=2,164), France



* Semestre 2.

Tableau 3 Répartition des donneurs de sang virémiques pour le VHC par tranche de charge virale et par génotype (Gen) sur la période 2007-2010, France / Table 3 Distribution of HCV-RNA positive blood donors according to the viral load and genotype (Gen) from 2007 through 2010, France

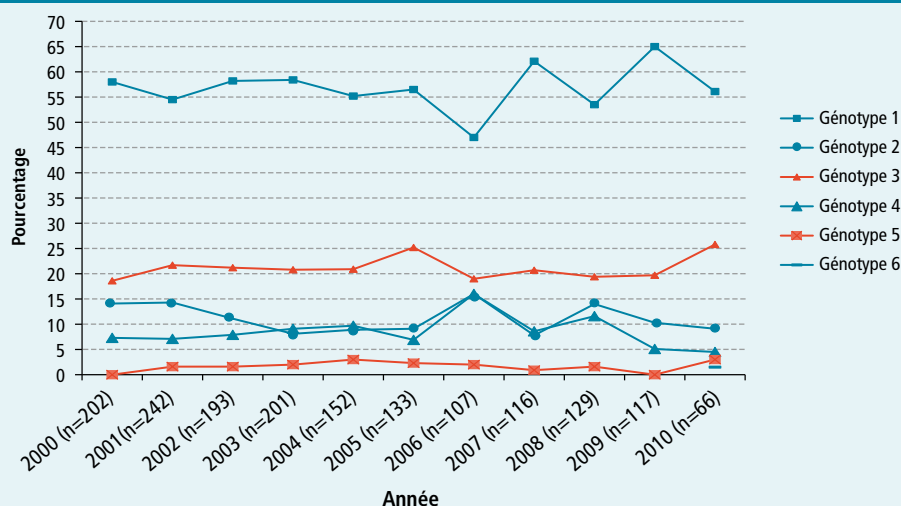
CV log UI/ml	Gen1a (N=137)	Gen1b (N=116)	Gen2 (N=46)	Gen3 (N=90)	Gen4 (N=34)	Gen5 (N=5)	NG ¹ (N=5)	Total (N=433)
<1,39	0,0	0,0	0,0	0,0	2,9	0,0	80,0	1,2
1,4-3	0,7	1,7	2,2	2,2	0,0	20,0	0,0	1,6
3-3,99	0,7	2,6	6,5	10,0	11,8	0,0	0,0	4,6
4-4,99	13,1	12,9	10,9	24,4	29,4	0,0	20,0	16,2
5-5,99	37,9	33,6	23,9	41,1	38,2	40,0	0,0	35,8
6-6,99	39,5	44,0	43,5	18,0	17,6	40,0	0,0	34,9
≥7	8,0	5,2	13,0	2,2	0,0	0,0	0,0	5,8
Moyenne*	5,87	5,84	5,87	5,21	5,10	5,33	5,59	5,62
Écart-type	0,83	0,89	1,15	1,18	1,38	1,57	2,49	1,08

¹ NG : non génotypables.

Sont exclus de ce tableau, 2 échantillons de 2010 de génotypes 1d (CV : 6,90 log UI/ml) et 6 (CV : 5,68 log UI/ml) respectivement.

* Différence significative ($p < 10^{-4}$) entre génotypes 1a, 1b, 2 d'une part et 3 et 4 d'autre part.

Figure 5 Évolution des proportions (en %) des génotypes du VHC chez les donneurs de sang virémiques pour la période 2000-2010, France / Figure 5 Trends in HCV genotype distribution (%) in HCV-RNA positive blood donors from 2000 through 2010, France



d'une détermination du génotype. Le plus fréquent était le génotype 1 (57,4%), suivi par le génotype 3 (21%), le génotype 2 (11,5%) et le génotype 4 (8,7%). Cette répartition est relativement stable au cours du temps malgré quelques fluctuations (figure 5), à l'image de l'année 2006 où une augmentation des souches de génotype 4, au détriment de celles de génotype 1, a été observée, tendances non confirmées par la suite. Parmi les donneurs infectés par le génotype 1, 51,2% étaient de sous-type 1b et 48,4% de sous-type 1a. L'analyse des souches de génotype 2 montre une très grande variabilité de ce génotype avec toutefois plus d'un quart des souches appartenant au sous-type 2a. Enfin, le génotype 4 est aussi très variable, en dehors des sous-types 4a et 4d, qui représentent respectivement 46,8% et 38,2% des souches de ce génotype respectivement. Les génotypes 3 et 5 sont remarquablement conservés et toutes les souches appartenant à ces génotypes se classent en 3a et 5a, respectivement.

Parmi les 189 donneurs non virémiques de la période 2008-2010, 119 (63%) ont été analysés pour déterminer le sérotype VHC, parmi lesquels 69 (58%) ont été sérotypés avec succès. La proportion de type 1 (75,6%) est plus élevée que chez les donneurs virémiques (57,4%, $p=0,003$).

Les facteurs de risques retrouvés chez les donneurs virémiques interrogés (66%) sont significativement liés ($p < 10^{-4}$) au génotype. Chez les donneurs ayant un génotype 1a, 3a, ou 4a, une proportion plus élevée (46,7%, 45,4% et 43,4%, respectivement) a été contaminé par toxicomanie intraveineuse comparativement aux autres génotypes (entre 9,1% pour le génotype 1b et 16,8% pour le génotype 1, $p < 10^{-4}$). Chez les donneurs avec un génotype 1b ou 2, une proportion plus élevée (45,0% et 48,4% respectivement) avait un facteur de risque nosocomial, comparativement aux autres génotypes (entre 8,5% pour le génotype 1a et 27,6% pour le génotype 4, $p < 10^{-4}$).

Particularités des cas incidents dépistés par la recherche de l'ARN-VIH-1 ou de l'ARN-VHC

Du 1^{er} juillet 2001, date de son introduction systématique sur tous les dons de sang, au 31 décembre 2010, 23,5 millions de dons ont été testés par le DGV, pratiqué en pools de 24 dons pour 60% des dons, et en pools de 8 dons pour les 40% restants. Parmi les 344 donneurs infectés par le VIH, 319 (92,7%) étaient positifs pour l'ARN et les anticorps, 15 (4,4%) ne l'étaient que pour l'ARN et 10 (2,9%) ne l'étaient que pour les anticorps. Parmi ces 10 derniers, 4 étaient infectés par un virus dont l'ARN n'est pas détectable par les outils du DGV utilisés (3 VIH-2 et 1 VIH-1 gO) et 6 avaient des charges virales trop faibles pour être détectées. Parmi les 15 donneurs ARN pos/Ac neg : 13 étaient des hommes et 2 des femmes ; l'âge moyen était de 32,8 ans (19-49) ; 11 étaient infectés par un génotype B, 2 par un génotype CRF02_AG et 2 par un génotype C ; 12 étaient des donneurs connus ; enfin, 7 hommes sur les 13 avaient eu des relations sexuelles avec des hommes, 3 hommes avaient été contaminés par voie hétérosexuelle, 1 femme avait

un partenaire africain, 1 femme avait eu un partenaire caribéen et, pour 3 donneurs, le mode probable de contamination était inconnu.

Sur cette même période, parmi les 2 334 donneurs avec des marqueurs d'infection par le VHC, 1 622 (69,5%) étaient positifs pour les anticorps et l'ARN, 698 (29,9%) n'étaient positifs que pour les anticorps et 14 (0,6%) ne l'étaient que pour l'ARN. Parmi ces 14 donneurs : 8 étaient des hommes et 6 des femmes ; l'âge moyen était de 41,6 ans (20-64) ; 8 étaient infectés par un génotype 1a ; 10 étaient des donneurs connus. Les facteurs de risque étaient les suivants : 5 avaient des partenaires VHC positifs, 2 des accidents exposant au sang, 1 endoscopie, 1 nosocomial, 5 inconnus.

Discussion

La surveillance virologique, telle qu'elle est réalisée par le CNR, a pour objectif de compléter le profil virologique des donneurs trouvés positifs pour le VIH, VHB ou VHC sur la base d'investigations biologiques multiples, dont celles visant à caractériser la diversité des souches virales. Pour chacun des trois virus d'intérêt, cette caractérisation est fondée sur deux types de méthodes : l'une, immunoenzymatique, vise à caractériser la spécificité phénotypique des anticorps (VIH et VHC) ou de l'antigène (VHB), l'autre utilise l'analyse moléculaire. Chacune de ces méthodes a ses limites, qui par ailleurs divergent en fonction de l'agent viral. Le sérotypage des anti-V3 du VIH ou celui de l'Ag HBs ne sont contributifs qu'à la condition de la présence d'un titre minimal du marqueur cible. Aussi, les infections récentes, notamment pour le VIH, échappent à la caractérisation par cette méthode. Par ailleurs, le sérotypage VIH a une très faible valeur prédictive positive pour les sous-types non-B. Le succès du sérotypage des anticorps anti-VHC, basé sur la spécificité des anticorps dirigés contre les protéines NS4 du virus, est conditionné par la présence de ceux-ci (70 à 80% des cas rencontrés chez les sujets non virémiques). Le séquençage, pourtant considéré comme la méthode de référence pour le typage viral, présente quant à lui l'écueil de ne pouvoir être opérationnel que chez les sujets virémiques, à des taux généralement supérieurs aux seuils de détection des dispositifs de PCR en temps réel utilisés pour la quantification des charges virales et pouvant varier en fonction des méthodes employées. Par ailleurs, les résultats issus du séquençage sont conditionnés par la région génomique étudiée. En effet, seul le séquençage complet des souches, incompatible avec des études moléculaires extensives, permet une classification exacte de celles-ci. Cependant, la bonne complémentarité des deux méthodes d'études utilisées donne accès à la connaissance optimale de la diversité virale.

La dynamique de cette diversité chez les donneurs de sang est sans conteste le fait marquant de ces 11 années de surveillance. Particulièrement marquée pour le VIH, avec une diminution régulière du génotype B, notamment chez les donneurs originaires de France, elle montre la diffusion des sous-types non-B dans la population française. Ces données sont en accord avec les observations faites en population

générale, où la proportion des sous-types non-B parmi les sujets découverts séropositifs et faisant l'objet d'une déclaration obligatoire depuis 2003 a diminué significativement entre 2003 (46%) et 2005 (38%) et s'est stabilisée en 2006-2010 autour de 39% [9]. Toutefois, le pourcentage de sous-types non-B est légèrement inférieur chez les donneurs de sang, en possible relation avec une moindre proportion de personnes d'origine africaine dans cette population, du fait notamment de l'existence de facteurs d'exclusion au don (paludisme par exemple). Il convient de noter qu'il n'y a pas de relation entre le caractère récent de l'infection déterminé par le test d'infection récente et le génotype.

La répartition des génotypes VHB observée dans notre population est sensiblement différente de celles décrites dans divers travaux réalisés en France. En effet, même si les génotypes A et D sont invariablement les plus prévalents, leurs proportions respectives varient de 24% à 51% pour le génotype A (27% dans notre population) et de 18% à 42% (42% dans notre population) pour le génotype D [10-12]. Les proportions relatives des différents génotypes viraux présentent une certaine stabilité, avec toutefois une diminution du génotype D au profit des génotypes A et E, qui mérite d'être confirmée dans les années à venir.

Le VHC présente quant à lui une répartition génotypique très stable et en accord avec les données de diversité virale obtenues en France [13]. La part plus importante de sérotype 1 observée chez les non virémiques peut provenir soit d'un biais lié à un défaut de la technique de sérotypage, qui serait plus performante dans la reconnaissance des types 1, soit d'une réalité épidémiologique avec les contaminations les plus anciennes et guéries à ce jour, qui seraient de génotypes 1. Cette observation devra être consolidée sur un effectif plus important.

Par ailleurs, la diversité virale observée chez les donneurs de sang français diffère de celle rapportée récemment sur le continent nord-américain chez des sujets ayant donné leur sang entre 2006 et 2009 [14]. En effet, chez les donneurs de sang américains, les souches du VIH identifiées appartiennent majoritairement au génotype B, avec 97,5% des souches analysées (66,7% en France). La répartition des génotypes du VHB est en faveur du génotype A (48,7% contre 27,2% en France), alors que le génotype D reste minoritaire (13,5% contre 42,4% en France). Enfin, la répartition des génotypes VHC est en faveur du génotype 1a, avec 55% (28,4% en France). Trois éléments sont susceptibles d'expliquer ces discordances : la proportion des cas incidents chez les donneurs américains est plus importante que chez les donneurs français, la nature de l'immigration entre les deux pays est très probablement différente, tout comme la sélection des donneurs.

L'étude des donneurs positifs uniquement pour les acides nucléiques viraux en l'absence d'anticorps, quoiqu'en nombre réduit, permet d'identifier certaines caractéristiques spécifiques de ces sujets nouvellement infectés, notamment en termes de diversité virale. Alors que pour le VIH, la répartition des génotypes ne semble pas différente de celle observée chez les donneurs présentant des anti-

corps, pour le VHC, 67% des cas incidents étaient contaminés par un génotype 1a contrastant avec les 28% observés chez les donneurs ARN et anticorps positifs. Ce génotype, fréquemment lié à la contamination par usage intraveineux de drogue, nous donne des indications sur les modes récents de contamination par ce virus. La recherche des facteurs de risque chez les donneurs concernés ici montre un partenariat avec un sujet positif pour le VHC, pour un tiers d'entre eux, et une exposition au virus non identifiée, pour un autre tiers. Cette observation n'est pas en contradiction avec l'hypothèse de l'usage de drogue, puisque la contamination par voie sexuelle pour le VHC n'est pas formellement établie.

Nonobstant la sélection qui en conditionne les caractéristiques, la population des donneurs de sang n'en demeure pas moins le reflet des phénomènes qui se produisent dans la population générale. Ainsi, l'observation de la diversité virale dans cette population permet d'évaluer indirectement la dynamique virale de notre pays, et ce d'autant plus que la surveillance qui en est faite est quasi exhaustive.

Remerciements

Les auteurs remercient tous les acteurs de l'EFS et du CTSA impliqués dans la collecte, la qualification biologique des dons, l'hémovigilance, la plasmathèque, pour leur collaboration précieuse dans le recueil des données et du plasma, qui constituent la base de la surveillance de la population des donneurs de sang en France.

Les membres du comité de pilotage pour la surveillance épidémiologique des donneurs de sang de l'InVS (G. Andreu, L. Aoustin, A. Assal, M. Carlier, J.C. Desenclos, Y. Charpak, B. Danic, M.H. Elghouzi, G. Daurat, P. Gallian, A. Kerleguer, S. Laperche, M.F. Lecomte des Floris, P. Morel, B. Pelletier, J. Pilonel, E. Pouchol, D. Rebibo, C. Saura, M.P. Vo-Mai, C. Waller, B. Willaert) où se tiennent des discussions constructives, et qui sont associés à cet article. Les membres de l'équipe du laboratoire de référence (L. Boizeau, F. Bouchardeau, R. Caparros, A. Girault, I. Houdoin, A.K. Houdah, C. Jourdain, L. Leballais, M. Mercier-Darty, C. Portal, A. Razer) sont également vivement remerciés pour leur assistance technique.

Références

- [1] Barin F, Lahbabi Y, Buzelay L, Lejeune B, Baillou-Beufiles A, Denis F, *et al.* Diversity of antibody binding to V3 peptides representing consensus sequences of HIV type 1 genotypes A to E: an approach for HIV type 1 serological subtyping. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 1996;12(13):1279-89.
- [2] Laperche S, Girault A, Beaulieu MJ, Bouchardeau F, Couroucé AM. Determination of hepatitis B virus subtypes by an enzyme immunoassay method using monoclonal antibodies to type-specific epitopes of HBsAg. *J Viral Hepat*. 2001;8(6):447-53.
- [3] Servant-Delmas A, Mercier M, El Ghouzi MH, Girault A, Bouchardeau F, Pilonel J, *et al.* National survey of hepatitis B virus (HBV) polymorphism in asymptomatic HBV blood donors from 1999 to 2007 in France. *Transfusion*. 2010;50(12):2607-18.
- [4] Bouchardeau F, Cantaloube JF, Chevaliez S, Portal C, Razer A, Lefrère JJ, *et al.* Improvement of hepatitis C virus (HCV) genotype determination with the new version of the INNO-LiPA HCV assay. *J Clin Microbiol*. 2007;45(4):1140-5.
- [5] Laperche S, Saune K, Dény P, Duverlie G, Alain S, Chaix ML, *et al.* Unique NS5b hepatitis C virus gene sequence consensus database is essential for standardization of genotype determinations in multicenter epidemiological studies. *J Clin Microbiol*. 2006;44(2):614-6.
- [6] Bhattacharjee V, Prescott LE, Pike I, Rodgers B, Bell H, El-Zayadi AR, *et al.* Use of NS-4 peptides to identify type-specific antibody to hepatitis C virus genotypes 1, 2, 3, 4, 5 and 6. *J Gen Virol*. 1995;76(Pt 7):1737-48.
- [7] Barin F, Couroucé AM, Pilonel J, Buzelay L. Increasing diversity of HIV-1M serotypes in French blood donors over

a 10-year period (1985-1995). Retrovirus Study Group of the French Society of Blood Transfusion. *AIDS*. 1997;11(12):1503-8.

[8] Barin F, Meyer L, Lancar R, Deveau C, Gharib M, Laporte A, et al. Development and validation of an immunoassay for identification of recent human immunodeficiency virus type 1 infections and its use on dried serum spots. *J Clin Microbiol*. 2005;43(9):4441-7.

[9] Cazein F, Le Strat Y, Pillonel J, Lot F, Bousquet V, Pinget R, et al. Dépistage du VIH et découvertes de séropositivité, France, 2003-2010. *Bull Epidémiol Hebd*. 2011;(43-44):446-54.

[10] Halfon P, Bourlière M, Pol S, Benhamou Y, Ouzan D, Rotily M, et al. Multicentre study of hepatitis B virus genotypes in France: correlation with liver fibrosis and hepatitis B e antigen status. *J Viral Hepat*. 2006;13(5):329-35.

[11] Trimoulet P, Boutonnet M, Winnock M, Faure M, Loko MA, De Lédighen V, et al. Hepatitis B virus genotypes: a retrospective survey in Southwestern France, 1999-2004. *Gastroenterol Clin Biol*. 2007;31(12):1088-94.

[12] Ganne-Carrié N, Williams V, Kaddouri H, Trinchet JC, Dziri-Mendil S, Alloui C, et al. Significance of hepatitis B virus genotypes A to E in a cohort of patients with chro-

nic hepatitis B in the Seine Saint Denis District of Paris (France). *J Med Virol*. 2006;78:335-40.

[13] Payan C, Roudot-Thoraval F, Marcellin P, Bled N, Duverlie G, Fouchard-Hubert I, et al. Changing of hepatitis C virus genotype patterns in France at the beginning of the third millennium: The GEMHEP GenoCII Study. *J Viral Hepat*. 2005;12(4):405-13.

[14] Delwart E, Slikas E, Stramer SL, Kamel H, Kessler D, Krzyztof D, et al; NHLBI-REDS-II Study Group. Genetic diversity of recently acquired and prevalent HIV, hepatitis B virus, and hepatitis C virus infections in US blood donors. *J Infect Dis*. 2012;205(6):875-85.

Risques liés aux agents transmissibles émergents qui ne font pas l'objet d'un dépistage systématique en transfusion sanguine

Pierre Gallian (pierre.gallian@efs.sante.fr)^{1,2}, Cécile Corbi³, Joliette Coste⁴, Élodie Pouchoi⁵, Dominique Legrand¹, Rémi Courbil¹, Pierre Tiberghien¹

1/ Établissement français du sang, La Plaine-Saint-Denis, France

2/ Université de la Méditerranée Aix-Marseille 2, Institut de recherche pour le développement, École des hautes études en santé publique, UMR D 190 « Émergence des pathologies virales », Marseille, France

3/ Établissement français du sang Centre-Atlantique, Tours, France

4/ Établissement français du sang Pyrénées-Méditerranée, Montpellier, France

5/ Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé, Saint-Denis, France

Résumé / Abstract

La prévention des risques de contamination interhumaine des produits d'origine humaine par des agents pathogènes émergents ou ré-émergents est une préoccupation des autorités sanitaires. Classiquement, ces agents infectieux, qui ne font pas l'objet d'un dépistage en transfusion sanguine du fait de certaines caractéristiques (incidence de l'infection faible, présence dans le sang courte et transitoire...) peuvent constituer, au décours de circonstances épidémiologiques particulières (cas groupés, épidémies...), un problème de santé publique qui justifie leur surveillance et le recours éventuel à des moyens de prévention.

Chaque année, l'émergence ou la ré-émergence d'infections causées par des arbovirus (par exemple le virus West Nile) dans de nombreux pays nécessite une attention particulière. Les alertes transmises par les systèmes de surveillance sont analysées par une cellule d'aide à la décision qui choisit les mesures de prévention les plus adaptées. La prévention des infections à prions est réalisée par l'exclusion des donneurs ayant des antécédents familiaux de maladie neurodégénérative ou ayant reçu un traitement par des hormones de croissance extractives ou lors d'une greffe. La sélection a été renforcée en 1997, avec l'exclusion des donneurs antérieurement transfusés et, en 2001, avec celle des donneurs ayant séjourné plus d'un an cumulé au Royaume-Uni entre 1980 et 1996, période à risque au regard de l'épizootie d'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB) dans ce pays. La prévention des infections parasitaires (paludisme et maladie de Chagas) est réalisée par une éviction temporaire des donneurs de sang exposés au risque d'infection (quatre mois après le retour de zone à risque) complétée par un dépistage sérologique.

Risks related to emerging pathogens that are not systematically screened in blood transfusion

The prevention of human products contamination by emerging or re-emerging pathogens is a public health issue. Such pathogens are generally not subject to systematic blood screening because of their specific characteristics (e.g., low prevalence, short viremia...). However, on some occasions (clusters of cases, epidemics...), they can constitute a significant public health concern which requires specific surveillance and the implementation of prevention measures.

Each year, emergence or re-emergence of arboviral diseases such as West Nile fever requires specific attention in a variety of countries. Alerts received from the monitoring systems are analysed by a decision-making support unit in charge of selecting the most adapted prevention measures. Prevention of prion infections is conducted by excluding donors with a family history of dementia, those who received treatment with growth hormones or transplant patients. The selection was reinforced in 1997 with the exclusion of previously transfused donors, and in 2001 with the exclusion of donors who spent a total of one year in the UK between 1980 and 1996, which was a risk period with regard to BSE epizootic in this country. Prevention of parasitic infections (malaria and Chagas disease) is performed through the temporary exclusion of blood donors at risk of infection (four months after returning from a risk zone), followed by serological blood screening.

Mots-clés / Keywords

Donneurs de sang, arbovirus, prion, paludisme, maladie de Chagas / Blood donors, arbovirus, prion, malaria, Chagas disease

Introduction

Les agents pathogènes émergents constituent un enjeu de santé publique, en particulier dans des contextes épidémiques dont la survenue est difficilement prévisible. À titre d'exemple, le risque de prélever des dons contaminés par le virus West Nile

en 2003, lors de cas groupés dans le Var et lors du pic de l'épidémie de chikungunya à la Réunion en 2005-2006, ont été estimés par l'Institut de veille sanitaire (InVS) à respectivement 6 et 1 500 dons contaminés sur 100 000 [1]. Le calcul de ce risque pour les virus majeurs faisant l'objet d'un dépistage systématique est inférieur à 1 sur 1 million de dons

(voir l'article de J. Pillonel et coll., p. 438). Ces agents infectieux retiennent l'attention des autorités sanitaires car ils peuvent être responsables de pathologies sévères, en particulier chez des individus ayant un système immunitaire affaibli. Des moyens de prévention peuvent être mis en œuvre aux différentes étapes de la chaîne transfusionnelle : suspen-