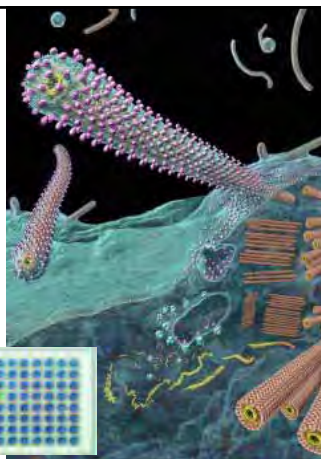


# Risque viral et Transfusion sanguine



## PARAMÈTRES DU RISQUE TRANSFUSIONNEL VIRAL

PREVALENCE DU VIRUS CHEZ LES DONNEURS

DATE DE LA TRANSFUSION PAR RAPPORT AU DEPISTAGE

NOMBRE D'UNITES TRANSFUSEES

TYPE DE PRODUIT SANGUIN

- Produits labiles : transmission de virus nus ou enveloppés
- Produits stables (poolage) : virus nus seulement (car SD)

TYPE DE RECEVEUR

- Immunodéprimés

## STRATEGIES DE PREVENTION DU RISQUE VIRAL TRANSFUSIONNEL

### Sur tous les donneurs

- SÉLECTION MÉDICALE
- EXCLUSION DES ANCIENS TRANSFUSÉS
- CAMPAGNE DE VACCINATION ANTI-VHB DE LA POPULATION

### Sur tous les dons

- TESTS SEROLOGIQUES (sérologies spécifiques et marqueurs indirects)
- DEPISTAGE GÉNOMIQUE VIRAL
- DELEUCOCYTATION

### Selon les produits - Plasma et produits dérivés

- PROCÉDÉS DE VIRO-ATTÉNUATION
- MOLÉCULES RECOMBINANTES

### - Produits labiles

- AUTO-TRANSFUSION
- PLASMA-QUARANTAINE

### Sur tous les receveurs

- VACCINATION ANTI-VHB
- HEMOVIGILANCE

## VIRUS TRANSMISSIBLES PAR LE SANG

### VIRUS ENVELOPPÉS

- Rétrovirus : VIH-1, VIH-2, HTLV-I
- Virus d'hépatite : VHB, VHC
- Cytomégalovirus
- Agents non pathogènes : VHG, TTV, SEN-V
- West Nile Virus

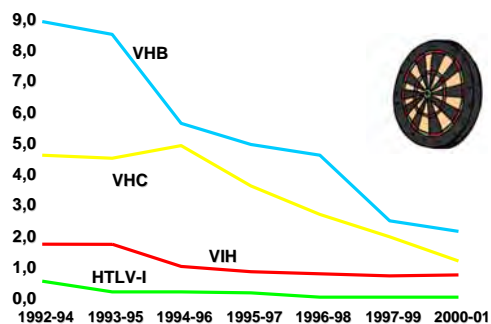
### VIRUS NON ENVELOPPÉS

- Parvovirus B19
- VHA

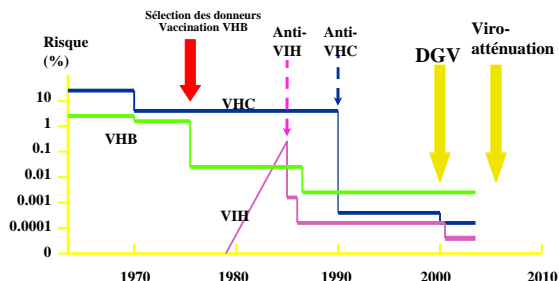
## Un quart de siècle de virologie transfusionnelle

Découverte	Prévention spécifique	Prévention non spécifique ou indirecte
1969	VHB	
1971	B19	
1975	HTLV-I	
1979	VIH	
1983		
1985	AC anti-VIH	Sélection des donneurs renforcée
1987		Viro-atténuation des fractions par SD
1988		AC anti-HBc, Transa > 2N
1989	VHC	
1990	AC anti-VIH 1 et 2	
1991	AC anti-VHC	
1992	AC anti-HTLV-I	Limitation des indications du PFC
1994	HHV-8	Transa > N — PFC viro-atténué
1995	VHG	
1997	TTV	Exclusion des transfusés du don
1998	Sen-V	Déleucocytation des PSL
1999		
2000		
2001	DGV VIH-VHC	Donneurs ayant séjourné au RU exclus
2003	WNV	Sélection des donneurs
?		Inactivation des agents pathogènes

## Risque résiduel viral par million de dons Période 1992-2001



## Évolution du risque viral transfusionnel sur la période 1960 -2010



Nombre de cas annuels d'infection par les trois virus majeurs détectée chez les donneurs de sang français entre 1990 et 2001



	1990	1995	2000	2002
Nombre de dons effectués dans l'année	3 971 207	2 907 682	2 475 102	2 460 000
VIH	409	70	40	36
VHB	2035	913	438	444
VHC	8660	1284	376	286

## Mécanismes de la chute des prévalences et des incidences

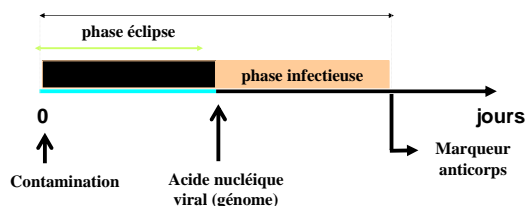
- 1 - Renforcement de la sélection médicale des donneurs
- 2 - Éviction des donneurs positifs sérologiquement
- 3 - Générations de tests de sensibilité accrue
- 4 - Prévention générale :
  - Vaccination contre le VHB
  - Lutte contre l'infection nosocomiale du VHC
  - Prévention du risque viral d'origine sexuelle (VIH)
  - Mesures pour le dépistage chez les sujets à risque (CDAG)

## Paramètres du risque résiduel

- 1 - Dons prélevés pendant la fenêtre sérologique
- 2 - Donneurs « immuno-silencieux » infectés et sans anticorps :  
VHC : 4 cas décrits, de 10 mois (USA) à 28 mois ( France)  
VIH : 2 cas décrits
- 3 - Donneurs infectés par des variants non détectés par les tests sérologiques (VIH du groupe O)
- 4 - Erreur humaine ou technique : exceptionnel du fait de la faible prévalence des virus recherchés

Enquêtes d'hémovigilance => prépondérante

## Fenêtre sérologique



## Estimation du risque résiduel lié à la fenêtre

$$\text{Risque} = \text{taux d'incidence} \times \text{Durée de la fenêtre} / 365$$

Taux d'incidence = nouvelles infections dans la population des donneurs pendant la période (donneurs ayant séroconverti)

Durée de la fenêtre (synthèse des données de la littérature) :

22 j (6-38)	pour le VIH
66 j (38-94)	pour le VHC
56 j (25-109)	pour le VHB



### Risque résiduel des trois virus majeurs (avant le Dépistage génomique viral)

Virus (fenêtre)	Risque résiduel par nombre de dons (1999-2001)	Nombre de dons infectés / an (2.5 M dons / an)
VIH (22 J)	1 / 1 400 000	2
VHB (56 J)	1 / 450 000	6
VHC (66 J)	1 / 760 000	3

VHB > VHC > VIH

### 1987 : « polymerase chain reaction »

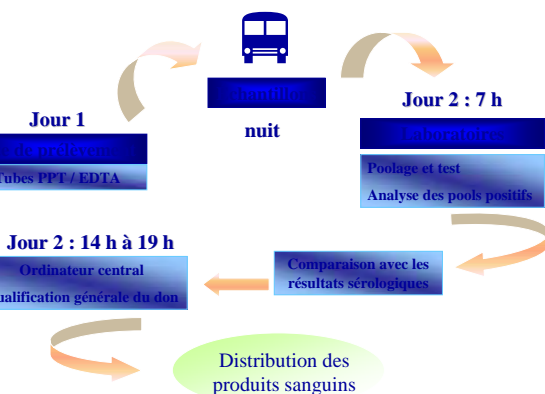
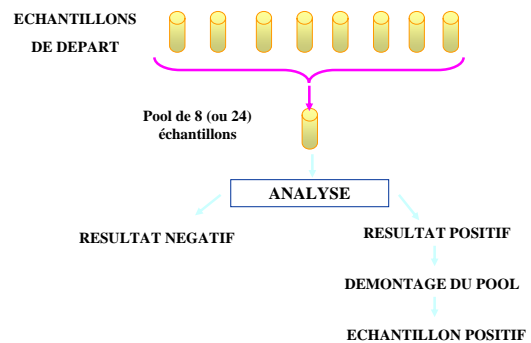


Systematisation du DGV : 2001

### Mise en place du DGV en France : 1 juillet 2001

- Tests sensibles et spécifiques
  - Automatisation des trois étapes
  - Automates traitant un nombre important d'échantillons
  - Gestion informatique des résultats et traçabilité complète
  - Durée de réalisation compatible avec les délais de la distribution des plaquettes
- Pas de faisabilité unitaire : poolage nécessaire, compromis entre:
- sensibilité de la technique (détection d'une charge basse)
  - Contraintes liées à la faisabilité

### Poolage des échantillons



### Technologies de DGV

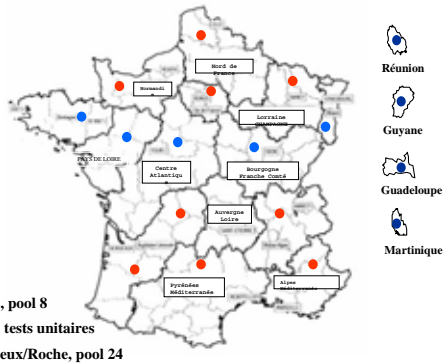
#### France métropolitaine : poolage d'échantillons

- ♦ Technologie Chiron : Procleix HIV-1/HCV
  - ♦ Basée sur la méthode de TMA (Transcription Mediated Amplification)
  - ♦ Détection simultanée des 2 virus dans le même tube (test multiplex)
  - ♦ Taille du pool : 8 échantillons
- ♦ Technologie Roche-Mérieux
  - ♦ Basée sur le principe de la PCR
  - ♦ Détection séparée des 2 virus
  - ♦ Combinaison de
    - ♦ Automate d'extraction : Extracteur Nuclisens (BioMérieux)
    - ♦ Automate d'amplification et de détection : Cobas Amplicor (Roche)
  - ♦ Taille du pool : 24 échantillons

#### Hors métropole et ETS des armées : test unitaire

- ♦ Technologie Chiron : Procleix HIV-1/HCV

### Techniques DGV en France en 2004

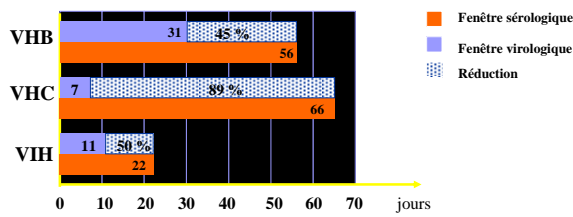


### Contribution du DGV à la fermeture de la fenêtre

	Fenêtre	Réduction de la fenêtre par le DGV
VHB	56 jours (25 - 109)	56 jours (25 - 109)
VHC	66 jours (38 - 94)	10 jours (- 90 %)
VIH	22 jours (6 - 38)	12 jours (- 50 %)

➔ *Le DGV réduit, mais ne ferme pas la fenêtre sérologique*

### Contribution du DGV à la fermeture de la fenêtre

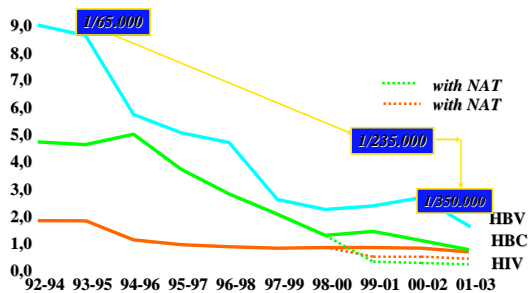


### Risque résiduel sur la période 2001-2003

	Durée de la Fenêtre (jours)	Risque résiduel par nombre de dons	Nombre de dons infectés (2,4 M dons/an)
VIH	22 -> 12	1 / 1 700 000 -> 1 / 3 150 000	2 / an -> < 1 / an
VHC	66 -> 10	1 / 760 000 -> 1 / 10 000 000	3 / an -> < 1 / 3 ans
VHB	56	1 / 640 000	< 6 / an

**VHB > VIH > VHC**

### Evolution du risque résiduel par million de dons (1992-2003)



VIH : 1 / 3 150 000      VHC : 1 / 10 000 000      VHB : 1 / 640 000

Risque cumulé pour les trois virus majeurs en 2003 :

**1 / 350 000**

Soit près de 50 % de moins qu'avant le DGV (1/235 000)

Principalement lié au risque résiduel transfusionnel VHB

## 30 mois de DGV en France métropolitaine

1/7/2001 - 31/12/2003

Nombre de dons testés		6,13 millions
VIH	AC+ / DGV+	87
	AC- / DGV+	2
	AC+ / DGV-	1
	AC- / DGV-	1*
VHC	AC+ / DGV+	597
	AC- / DGV+	4
	AC+ / DGV-	171
	AC- / DGV-	0

\* Mis en évidence par le système d'hémovigilance.

## Diversité des tests de dépistage transfusionnels en Europe

	Ag HBs anti-VIH anti-VHC	Anti-HBc	Anti- HTLV-I	DGV		
				VHC	VIH	VHB
Autriche	+	+		+	+	+
Belgique	+	+		+	+	
Danemark	+	+				
France	+	+	+	+	+	
Allemagne	+	+		+	+	+
Grèce	+					
Irlande	+	+		+	+	
Italie	+	+		+		
Luxembourg	+			+	+	+
Norvège	+			+		
Pays-Bas	+		+	+	+	
Portugal	+	+	+			
Espagne	+	+		+	+	
Suède	+		+	+		
Suisse	+			+		
Royaume-Uni	+			+		

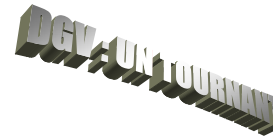
## RESULTATS EUROPEENS DU DGV

23,9 M dons testés : 7 VIH+ [ 0,3 / 1 000 000 ]

Chiffres estimés = chiffres observés

40,8 M dons testés : 53 VHC+ [ 1,3 / 1 000 000 ]

Chiffres estimés > chiffres observés



- Pour la sécurité transfusionnelle  
=> Réduction du risque
- Pour le diagnostic virologique  
=> Évolution technologique
- Pour la santé publique  
=> Choix politique et éthique

## Bilan du DGV

- Capacité d'action synergique du réseau transfusionnel : bonne intégration du DGV dans la qualification des dons
- Fonctionnement en adéquation avec les bonnes pratiques de qualification et avec les délais de distribution des plaquettes
- Fin du tabou de la BM en grande série : pas de problème de sensibilité et de spécificité sur de grandes séries
- Confirmation du caractère exceptionnel des sujets viropositifs « silencieux »
- Bénéfice limité car le risque résiduel était déjà faible à la mise en place du DGV
- Persistance d'un risque résiduel infime : fermeture *pas tout à fait complète* de la fenêtre
- Révision de l'intérêt des marqueurs indirects

## Abandon de tests sérologiques avec le DGV

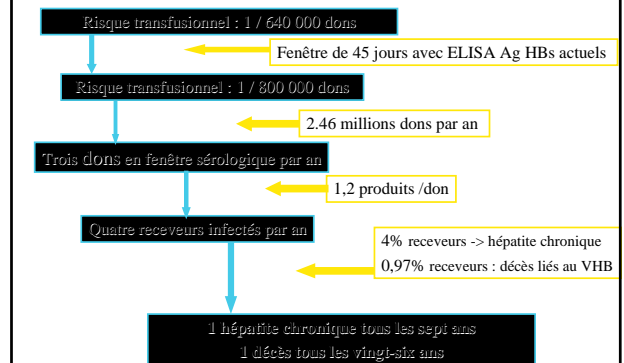
Anticorps anti-VIH-1/2	Non
Anticorps anti-VHC	Non
Antigène HBs	Non
Anticorps anti-HBc	Oui ?
Marqueur indirect : ALAT	Fait

## Questions

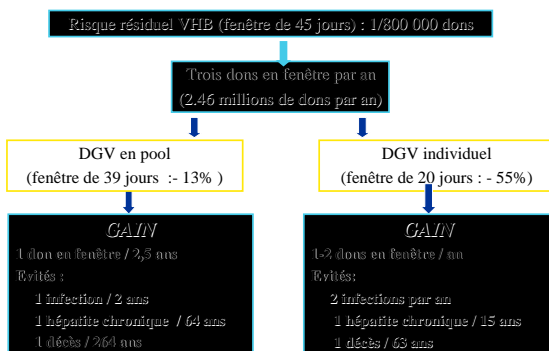


- Passage à un dépistage unitaire ?
- Élargir le DGV à d'autres agents ?
  - DGV « orienté » selon les receveurs ? [parvovirus B19]
  - Virus émergent (WNV) : inclusion dans un « multiplex »
  - ADN du VHB ?
    - Niveau de sensibilité du DGV
    - Vaccination contre le VHB chez les receveurs

## Risque résiduel du VHB en France



## Estimations du bénéfice du DGV du VHB



## Risques

### Ag HBs négatifs en phase chronique

Mutant de l'enveloppe  
Hépatite B occulte

(mais anti-HBc positif)

### Anticorps-HBc négatifs

Infections aiguës  
Mutants de la capside  
Immunotolérance du virus

(mais Ag HBs positif)

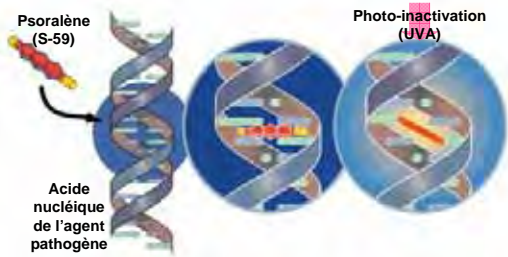
- 1) Impact clinique du DGV limité
- 2) Sensibilité des réactifs Ag HBs élevée
- 3) DGV unitaire non disponible
- 4) 22% de la population a reçu trois doses vaccinales

=> DGV du VHB non introduit en France

## Tournant attendu : Inactivation des agents pathogènes dans les PSL

- Composés à base de colorants activés par des rayonnements : abandonnés
- Composés se combinant aux acides nucléiques et bloquant la réplication virale et la division cellulaire

## Inactivation des PSL



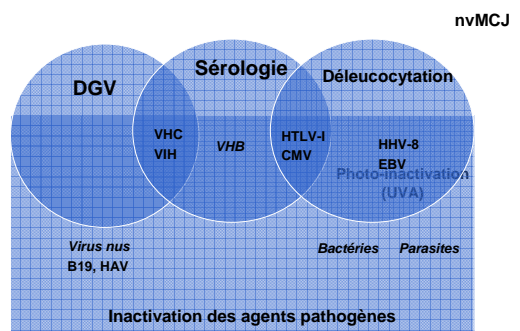
## Inactivation des agents pathogènes dans les PSL

- Efficace sur bactéries, virus (nus ou enveloppés, cellulaires ou extra-cellulaires), parasites — non sur nvCJD
- Efficace sur lymphocytes => prévention de la GVH
- Innocuité (carcinogénéité, genotoxicité, toxicité de la reproduction) => études nécessaires
- Limites : haut titre infectieux (B19)
- Avantages :
  - Indépendant de la diversité virale
  - Charge virale basse pendant la fenêtre (VHB)
  - Agents viraux inconnus +++

## Inactivation des agents pathogènes dans les PSL

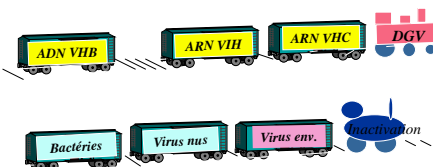
- Dilemme :
  - Limiter la concentration du composé pour réduire le risque de toxicité
  - Concentration suffisante pour inactiver la concentration d'acides nucléiques d'agent infectieux de titre élevé
  - Technique différente pour chaque type de PSL (délai et coût)
  - Technique applicable sur sang total ?
- Remise en cause des marqueurs sérologiques ?
- Maintien du DGV pour les titres infectieux très élevés ?

## STRATÉGIES PRESENTES ET FUTURES



## Options

Ajouter des wagons au fur et à mesure de l'identification des agents infectieux ?



- 1) Recourir uniquement à l'inactivation des agents pathogènes ?
- 2) Laisser rouler les deux trains ?

Inactivation pas applicable aux produits de thérapie cellulaire !

## Abandonnera-t-on des tests virologiques avec l'inactivation des agents pathogènes ?

VIH-1/2	AC DGV	? non
VHC	AC DGV	? non
VHB	Ag HBs Anti-HBc DGV	? oui ?
HTLV-I B19	AC DGV	oui non

## Produits sanguins labiles actuels

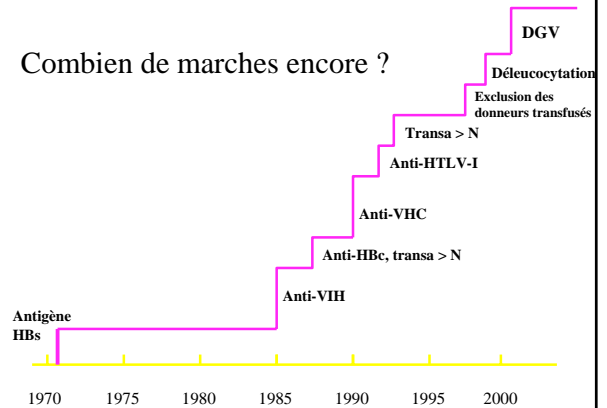
Efficacité clinique  
+  
Sécurité Immunologique  
+  
Sécurité infectieuse

Thérapie  
cellulaire

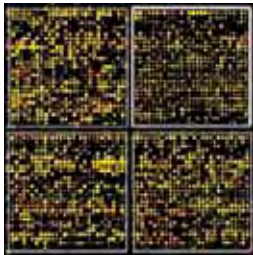


Produits d'origine  
non humaine

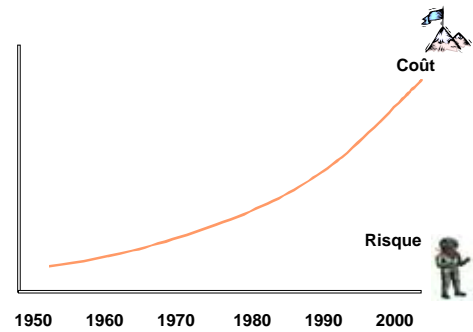
## Combien de marches encore ?



## Intérêt potentiel des puces : détection de multiples agents infectieux à partir d'un même échantillon



## Risque viral transfusionnel



## Risques des PSL

### IMMUNOLOGIQUE

Erreur ABO  
Rh, Kell et autres

### INFECTIEUX

Bactéries >> virus  
Parasites, Prions

#### Mécanisme

Mécanisme	Chiffres 2003
VIH	1 / 2 500 000
VHC	1 / 6 650 000
VHB	1 / 450 000
Erreur ABO	1 / 150 000
Infection bactérienne	1 / 210 000*

\* 1 / 25 000 avec les CPA

## Virus émergents

et

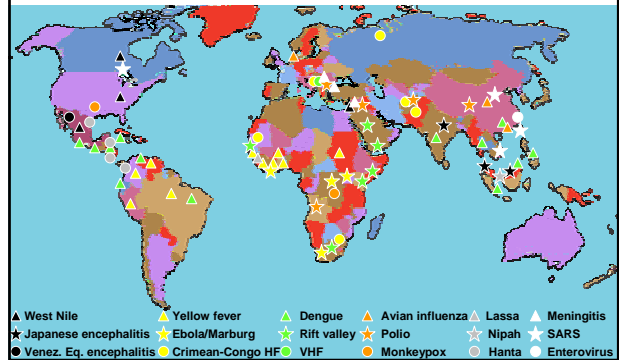
## Transfusion sanguine



## MALADIES ÉMERGENTES VIRALES RÉCENTES

1976	Fièvre hémorragique d'Ebola	Filoviridae
1980	Leucémie T	HTLV-I
1981	SIDA	VIH-1
1988	Hépatite E	VHE
1989	Hépatite C	VHC
1991	Fièvre hémorragique du Venezuela	Virus Guanarito
1993	Sd cardio-pulmonaire à Hantavirus	Virus Sin nombre
1994	Fièvre hémorragique du Brésil	Virus Sabria
1998	Encéphalite (Singapour)	Virus Nipah porcine
1999	Grippe d'origine aviaire (Hong-Kong)	Virus aviaire
2002	Infection à West Nile virus (USA)	WNV
2003	Infection pulmonaire (Asie)	SRAS

## Emergences virales 1996-2003 (rapport OMS)



## CONCEPT D'AGENT EMERGENT

**Virus émergent** : virus récemment identifié et donnant, de manière spontanée, soudaine et progressive, des cas d'une maladie nouvelle : VIH  
(à distinguer de l'agent récemment identifié d'une maladie connue : VHC)

### Maladie émergente :

- Définition OMS : maladie dont la recrudescence ou l'apparition crée ou peut créer un problème de santé publique
- Définition CDC : maladie dont l'incidence a augmenté lors des vingt dernières années (ou peut augmenter)

**Réémergence virale** : réapparition d'une maladie virale dûment identifiée et ayant émergé il y a plus ou moins longtemps, au même endroit ou en un autre lieu : résurgences d'infections à virus Ebola en 1994 après 18 ans de silence apparent

## CONCEPT DE REUSSITE EMERGENTIELLE

Émergences virales	Extension géographique	Pouvoir pathogène	Virus	Date et lieu d'apparition
Réussies	Large : millions de sujets	Important	VIH VHC	Vers 1950, Afrique centrale 1500 ans, Eurasie
Fort potentiel de réussite	-> milliers de sujets	Variable	West Nile virus	1994, Afrique du Nord
Potentiel de réussite limité	Limitée -> centaines	Mortalité élevée (> 80 %)	Ebola	1976, Zaïre
Non réussies	Très limitée -> dizaines	1/3 de mortalité	Virus grippal aviaire	1997, Hong-Kong

## PARAMÈTRES D'EMERGENCE VIRALE (1)

### CONTEXTE EXTRA-VIRAL

Augmentation des réservoirs de virus, des vecteurs, de la population, des contacts de l'homme avec les réservoirs ou les vecteurs

#### Facteurs Ecologiques

- Contacts animaux
- Procédures agro-pastorales à risque, déforestations -> réservoir de rongeurs
- Changements climatiques
- Densité de vecteurs augmentée [WNV]

#### Facteurs humains

- Comportements : mœurs, toxicomanie, tourisme sexuel [VIH, VHC, VHB]
- Voyages : guerre, migration de population, avion (WNV, SRAS, grippe)
- Démographie : densité de population, hyper-urbanisation, stockage d'eau défectueux (dengue, VHE)

#### Facteurs technologiques

- Médical : vaccin, greffe d'organes (humains ou animaux), transfusion de PSL ou PSS
- Alimentaires par industrialisation : rupture de barrière d'espèce

## PARAMÈTRES D'EMERGENCE VIRALE (2)

### 2) MODIFICATIONS DE L'AGENT PATHOGÈNE

- Variants de virus connus : grippe, VIH de groupe O, VHB
- Variations de virulence
- Effet de pression immunitaire, vaccinale, médicamenteuse

## Chasse et Pêche moléculaires

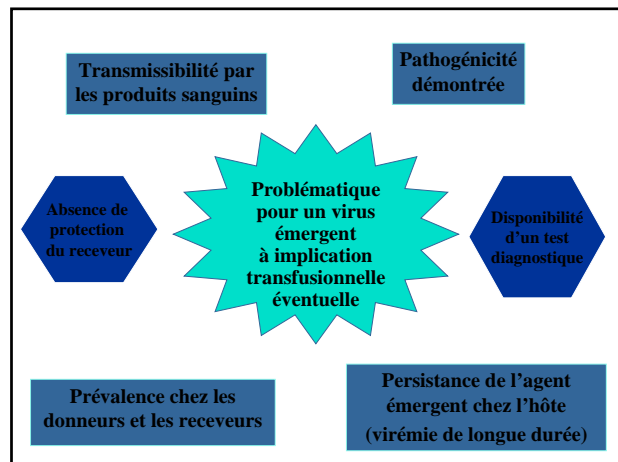
Naguère : Maladies présumées virales --> virus

Désormais : Virus --> Recherche de la maladie

## Quelques virus « transfusionnels » identifiés au cours des vingt dernières années

1983	VIH-1
1986	VIH-2
1989	VHC
1990	VHE
1994	HHV-8
1995	GBV-C
1997	TTV
1998	Erythrovirus V9
2000	Sen-V
2003	SARS

	Transmission sanguine	Pathogénicité	Prévalence Donneurs	Persistence chez l'hôte
VHG	+	-	1 – 5%	+
TTV	+	-	99 %	+
HHV-8	-	+	1-3 %	+
Bornavirus	-	+	1 %	+
West Nile virus	+	+	0-1 %	-
SRAS	(+)	+	?	-
nvMCJ				



## Cibles potentielles pour un dépistage en transfusion

### Virus (ré)émergents

Parvovirus B19	Chez receveurs immunodéprimés
VHA	Existence d'un vaccin
West Nile Virus	Problème de santé publique aux USA

### Virus récemment identifiés

VHG, TTV, Sen-V	Non pathogène
HHV-8	Non transmissible par transfusion

Ère des virus émergés : trois virus majeurs = VHB, VHC, VIH

Ère des virus transfusionnels non pathogènes (VHG, TTV, Sen-V)

Ère des virus pathogènes non transfusionnels (HHV-8, Bornavirus)

Problèmes résolus (CMV, HTLV-I)

Problèmes non résolus (B19, vCJD)

De nouvelles émergences avant la décontamination des PSL ? (WNV, Prions)

## ESCALADE SECURITAIRE

Découverte de l'agent émergent

Diffusion et utilisation de l'information

Perception des risques sanitaires

Hypothèse catastrophique sur fond médiatique

Inquiétudes de la population

Mise en action du principe de précaution

## Principe de précaution

Réponse à la perte de confiance de la société vis-à-vis de la médecine et des pouvoirs publics

*- A fait irruption en Santé publique au décours du drame du Sang contaminé  
- Renforcement de son usage avec l'émergence du nVCJ*

Protection pour le décideur ou pour le malade ?

Risque de transformer la prise de risque, même minime, en faute.

Insécurité juridique du décideur, aggravée par la tendance à la judiciarisation

Réduire le risque potentiel lié à l'incertitude scientifique : demande du risque zéro

Qui a soif et se dit : « il faut que je boive »  
n'applique pas le principe de précaution.

Qui a soif et se dit : « je dois avoir un diabète »  
applique le principe de précaution.

## Émergence virale : stratégie d'urgence pour la sécurité transfusionnelle

Appréciation du risque

- Portage chronique du virus chez le donneur
- Prévalence chez donneurs et receveurs
- Transmission par les PSL et les produits stables

Appréciation de l'effet des préventions existantes

- Sélection des donneurs : facteurs de risque communs
- Marqueurs épidémiologiques associés
- Déleucocytation (agents purement leucotrope)
- Exclusion des donneurs transfusés

Sélection des donneurs selon le(s) facteur(s) de risque du virus

Test de dépistage (sérologique ou moléculaire)

- Sensibilité, spécificité, reproductibilité, faisabilité en grande série

## Stratégie préventive générale

- Hémo-vigilance sur le risque résiduel des virus majeurs et sur l'émergence de variants de virus connus
- Surveillance épidémiologique des maladies émergentes présumées virales
- Suivi de cohortes sentinelles de malades transfusés immunocompétents et immunodéprimés
- Mise en place de bibliothèques de donneurs et de receveurs à l'échelon national et européen.

## PRION

Forme anormale (infectieuse et transmissible) d'une protéine naturelle (la PrP<sup>c</sup>).

La maladie est liée à l'accumulation de la forme anormale.



## Encéphalopathies spongiformes subaiguës transmissibles (ESST)

### HUMAINES

Maladie de Creutzfeldt-Jakob (MCJ) (90%)  
Un nouveau cas par an et par million d'habitants  
Trois formes : sporadique (85-95%), familiale (5-15%), iatrogène  
Nouveau variant (nvMCJ)

### Kuru

Syndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker (familial)  
Insomnie fatale familiale (< 10 cas connus dans le monde)

### BOVINES

Scrapie ou tremblante du mouton  
Encéphalopathie spongiforme bovine (ESB)

### Nouveau variant de la maladie de Creutzfeldt-Jakob

- Premiers cas diagnostiqués au Royaume-Uni en 1995
- 2004 : R-U (149 cas), France (8), Italie (1), USA (1)
- Evolution rapide vers une issue fatale
- Contamination par ingestion de viande de bovin atteint d'ESB
- Exposition au nvMCJ en France :
  - Séjour en GB et consommation de produits bovins
  - Consommation de produits bovins importés de GB



Hunter, J Gen Virol 2002

### Première démonstration de la transmission de l'agent par le sang

- Incubation courte !
- Efficacité de la voie veineuse
- Transposition au modèle humain : hypothétique

## Prévention transfusionnelle

- Pas de test pour la détection de sujets porteurs du nvMCJ
- Principe de précaution : exclusion des donneurs ayant séjourné plus d'un an en Grande-Bretagne entre 1980 et 1996
- Déleucocytation => réduction de la charge infectieuse potentielle

## 2003 : premier cas rapporté de contamination présumée transfusionnelle

Donneur de sang (24 ans) —> Mort 3 ans après : Creutzfeld-Jacob

Concentré globulaire en 1996

Receveur de 62 ans —> six ans après (2003) : Creutzfeld-Jacob



## ZOONOSES



VIH-1



VIH-2



PRION



SRAS

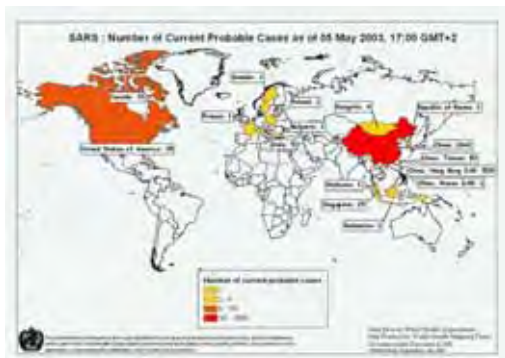


WNV



## SRAS

- Coronavirus
- Syndrome Respiratoire Aigu Sévère
- Propagé par contacts personnels étroits
- Fièvre, toux, dyspnée
- Taux de mortalité ~15%
- Taux de mortalité chez les sujets âgés ~50%



## Transmission par transfusion ?

- **Aucun cas rapporté**
- **Risque théorique :**
  - Viabilité en milieu de culture cellulaire > 21 jours à 4°C
  - Infection respiratoire
- **Sécurité transfusionnelle :**
  - 14 jours de report pour voyage dans les zones affectées
  - 28 jours de report pour les cas avérés



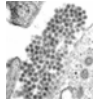
## “Expect the unexpected”

- Un mélange complexe d'évolutions sociales, technologiques, écologiques, virales, prédispose à l'émergence d'agents viraux
- Ces émergences viennent de réservoirs animaux
- Ceci nécessite des réseaux de surveillance
- Besoin de stratégies antivirales et vaccinales nouvelles

## West Nile Virus et transfusion



- 1) Pathologie et épidémiologie
- 2) Implication transfusionnelle



## West Nile Virus

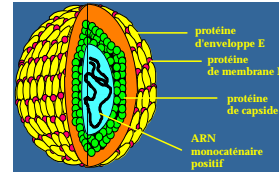


- Découvert en 1937 en Ouganda (district du West Nile, sur la rive occidentale du Nil)
- Arbovirus (arthropod-born virus)
- Membre des *Flaviviridae*, genre *Flavivirus* (68 virus environ) :

Virus de la dengue  
Virus de la fièvre jaune  
Virus West Nile  
Virus de l'encéphalite japonaise  
Virus de l'encéphalite de St Louis  
Virus de l'encéphalite à tiques

- Capside icosaédrique, 40-60 nm de diamètre
- Virus enveloppé
- ARN monocaténaire, simple brin, de polarité +, 11 000 bases

## Structure de la particule virale

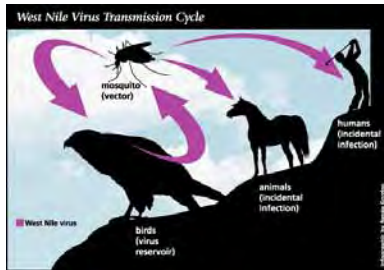


Organisation du génome : 3 protéines structurales (C, M, E) et 7 non structurales






## Epidémiologie

Vecteur : arthropode piqueur (moustique : 48 espèces surtout *Culex tarsalis*)  
Réservoir : oiseaux aquatiques (70 espèces)  
Hôtes réceptifs : cheval et homme



## Transmission dans l'espèce humaine

- **Piqûre de moustique** : cause n° 1 
- **Transfusion sanguine** :
  - Transmission démontrée par les PSL 
  - Pas de transmission par les PSS (virus enveloppé)
- **Greffe d'organe**
- **Allaitement** : génome dans le lait, mais efficacité de l'infection inconnue
- **Transplacentaire** : 1 cas
- **Exposition professionnelle** : voie percutanée 

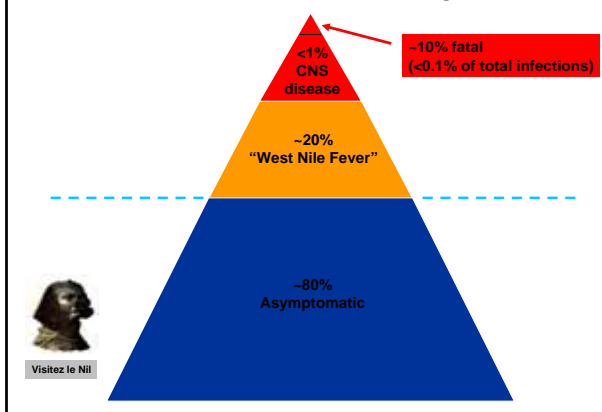
## Expression clinique



- Majorité (80 %) de formes asymptomatiques
- Syndrome pseudo-grippal : fièvre, myalgies et rash cutané dans 20% des cas (durée : 2 à 6 jours)
- Expression neurologique rare (< 1% des infections) mais mortelle dans 10 % des cas :
  - Méningo-encéphalite
  - Paralyse flasque à type de poliomyélite
  - Syndrome type parkinsonien

Les symptômes se manifestent 3 à 15 jours après la piqûre

## WNV Human Infection "Iceberg"



## Expression clinique chez l'animal

### • Chevaux

- Infection inapparent ou peu symptomatique
- Encéphalite



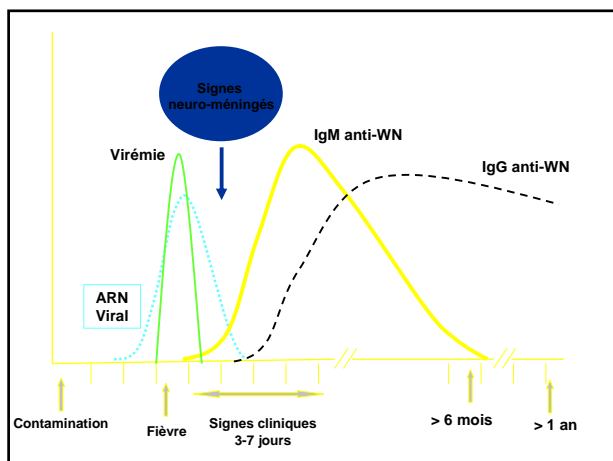
### • Oiseaux

- Forme inapparente
- Évolution fatale : oies et cigognes (Israël), corvidés (corbeaux et corneilles aux USA)



## Histoire naturelle

- **Incubation : 2 à 14 jours**
- **Virémie faible et brève : 2 jours avant et 2-4 jours après les symptômes**  
(jusqu'à 28 jours chez l'immunodéprimé)
- **Séroconversion IgM puis IgG : perte de l'infectivité**  
(immunité protectrice durable)



## Diagnostic biologique

### 1) Infection active:

- o Détection du génome viral par RT-PCR : virémie brève
- o Cultures cellulaires et détection d'antigènes : tests de confirmation (laboratoires spécialisés)

### 2) Séroconversion : Sérologie dans sérum ou LCR

- o IgM (Elisa) détectable environ huit jours après le début de l'infection, avec une persistance parfois très longue
- o IgG (Elisa)
- o Mais réactions croisées fréquentes (avec autres arbovirus) => test de confirmation indispensable (Inhibition d'hémagglutination, fixation du c, IFI, *Plaque Reduction Neutralization Test* ou PRNT)



## Répartition géographique

- **Afrique** : Ouganda, RDC, RCA, Kenya, Nigeria, Côte d'Ivoire, Sénégal, Afrique du Sud, Madagascar
- **Pourtour méditerranéen** : Israël, Égypte, Tunisie, Maroc, Chypre, Italie, France, Portugal
- **Europe** : Roumanie, République Tchèque
- **Asie** : Astrakan Azerbaïdjan, Iran, Inde, Pakistan
- **États-Unis depuis 1999**

## Épidémies

### Épidémies animales et humaines limitées :

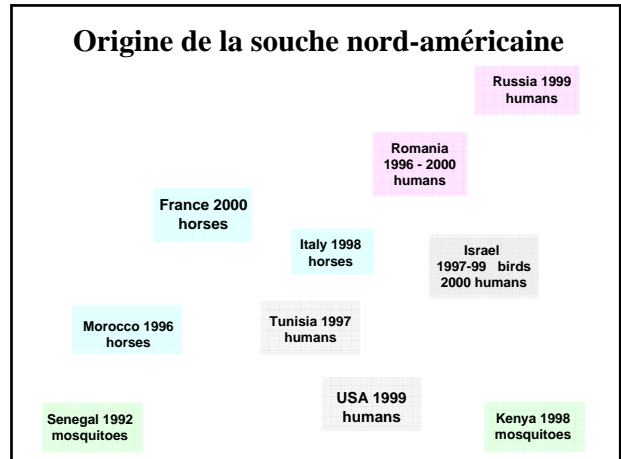
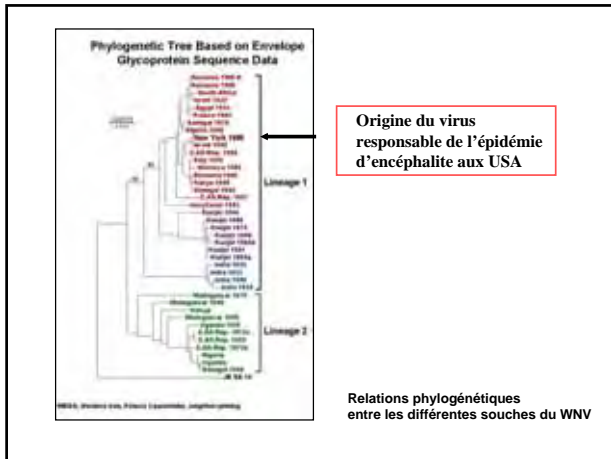
Ouganda (1937), Israël (1951-54 : première épidémie rapportée), Égypte (1952-1954), France (1962), Afrique du Sud (1974)

### Silence épidémiologique, puis augmentation de la fréquence et du nombre des épidémies :

Afrique du Nord (1994-96), Roumanie (1996-97), Italie (1998), Russie (1999), Israël (1999-2002)

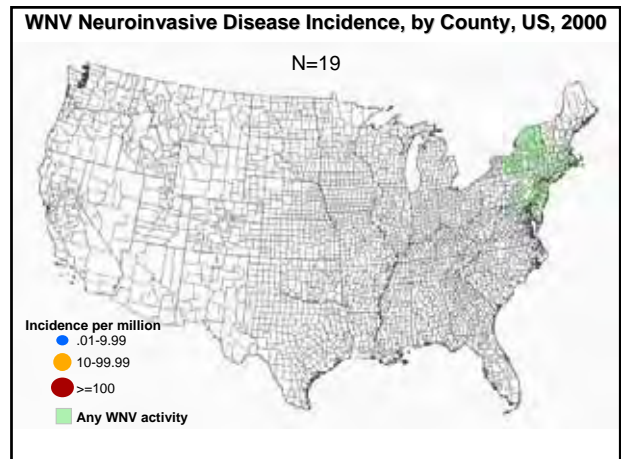
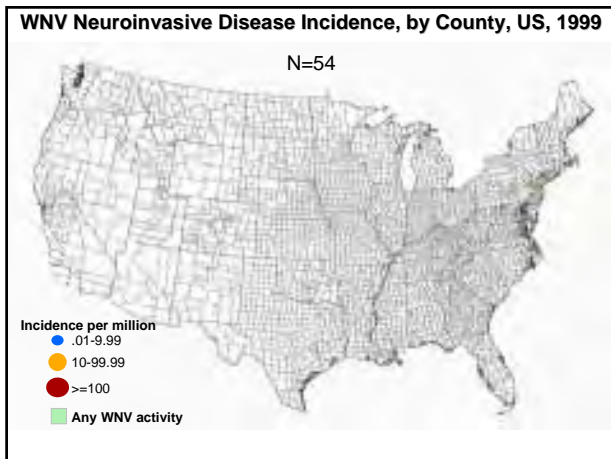
### Dissémination au Nouveau-Monde :

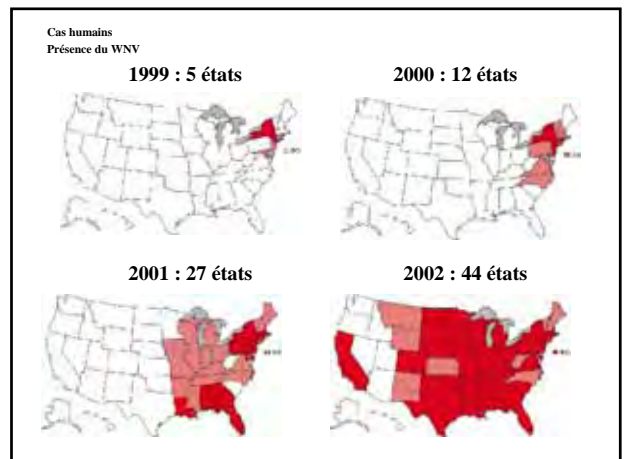
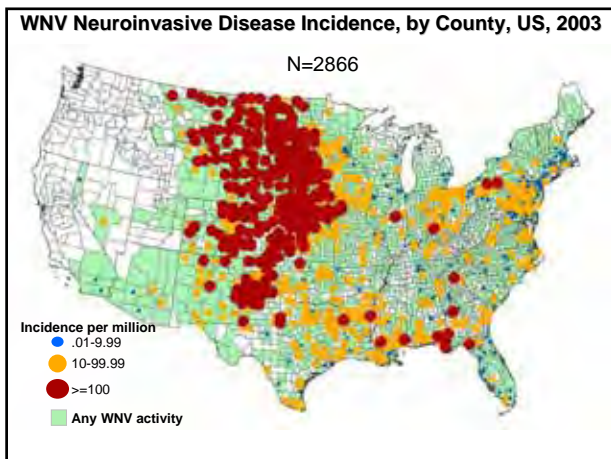
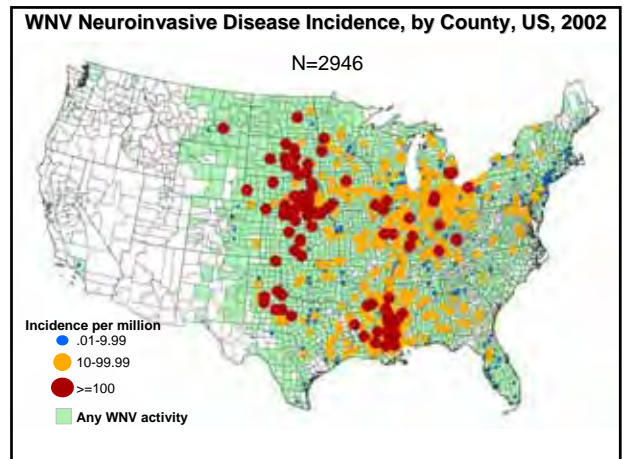
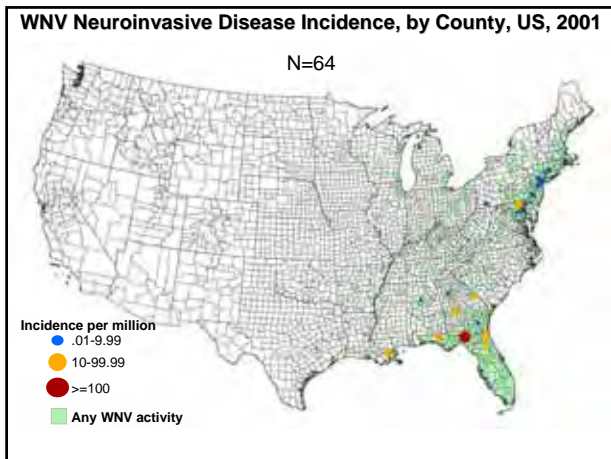
Amérique du Nord (1999-2002)



- Modes d'entrée possibles du WNV aux USA**
- Humain porteur du virus (par avion)
  - Importation d'un animal réservoir : une souche de type I très virulente en Israël véhiculée à New York en 1999 par une cage d'oiseaux contaminés ?  
[ 99% d'homologie entre la souche américaine et la souche présente en Israël en 1999 ]
  - Oiseau "Storm-transported"
  - Bioterrorisme

- Épidémie nord-américaine**
- Émergence de cas d'encéphalites au cours de l'été 1999 à New York :
    - 1er cas le 23 août
    - 62 cas humains
  - Séquençage du virus d'un flamand rose du zoo du Bronx
  - Caractères de l'épidémie américaine les années suivantes :
    - Hécatombe dans le réservoir aviaire (corneilles, moineaux)
    - Prédominance estivale.
    - Morbidité élevée : une méningite ou, plus souvent, une encéphalite pour 150 infections biologiques.
    - Mortalité élevée : 12% des patients hospitalisés



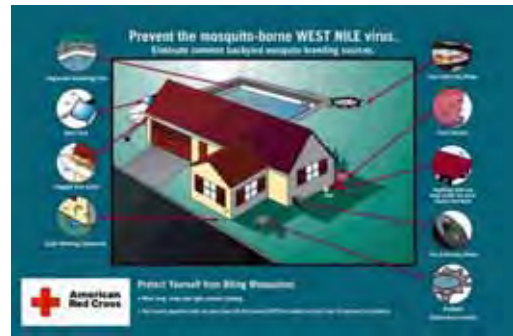
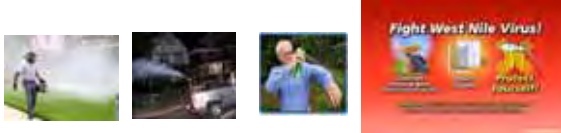


**Mesures curatives et préventives**

- Pas de vaccin humain (un vaccin équin depuis 2002)
- Pas de traitement curatif spécifique :
  - Anti-viraux connus : testés in vitro sans succès
  - Immunoglobulines : OMR-IgG-AM riche en anti-WNV

## Mesures curatives et préventives

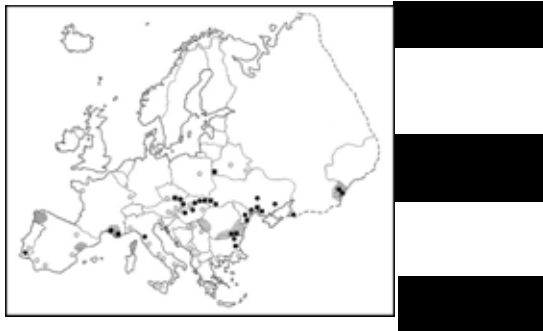
- Lutte vectorielle difficile : nombreux moustiques potentiellement impliqués
- Asperger les eaux sensibles (stagnantes) de traitements larvicides (anti-Culex)
- Mesures de protection individuelle : vêtements à manche longue, moustiquaire, insecticides, répulsifs



Epidémie aux USA

Environ un million de personnes infectées depuis 1999

## Extension de l'épidémie en Europe



## Le WNV en Europe ces dernières années

Pays	Espèce infectée	Décès / cas
Roumanie (1996)	Humains	42 / 470
Tchéquie (1997)	Humains	0 / 5
Italie (1998)	Chevaux	2 / 14
France (2000)	Chevaux	14 / 37
Pays-Bas (2002-03)	Humains	0 / 3*
France (2003)	Chevaux	0 / 1
	Humains	0 / 6

\* Cas « importés » (après séjour aux USA)

### Situation épidémiologique en France métropolitaine

1962, Camargue : premiers cas chez des chevaux et des êtres humains : treize cas (fièvre de trois jours : « grippe d'été »)

2000, Camargue :

- Nouvelle épidémie d'encéphalite équine sans cas humains
- Souche peu virulente, d'origine africaine (apportée par les oiseaux migrateurs)

Equine West Nile Virus



### Prévalence sérologique chez les donneurs de sang en 2000 en région exposée (Camargue) et en région non exposée (Marseille)

- Détection des IgM et des IgG (Elisa) en sept-nov. 2000
- Confirmation des résultats positifs par séronéutralisation

TABLE 1. Characteristics and results of the serologic tests

	Number of sera	Mean age (range)	Sex ratio	ELISA IgG-positive sera (%)	p value	Sera exhibiting a neutralizing activity	
						≥1-in-160	p value
Cohort A	1053	41.2 (18-80)	1.23	15 (1.42)	0.0027	8	0.0033
Cohort B	1104	43.4 (16-74)	1.17	2 (0.18)		0	

Transfusion, 2001

### DONNEURS DE SANG IgG POSITIFS CONFIRMES en 2000



### Etudes de séroprévalence

- 1) 2025 donneurs dans le Var (28 août-27 septembre 2003):
  - 1 IgM confirmé (PCR négative)
  - 9 IgG confirmés
- 2) Étude rétrospective de séroprévalence chez 12 347 donneurs entre avril et octobre 2003 sur l'arc méditerranéen :
  - 223 IgG (en cours de confirmation) = 1.80%
  - 11 IgM (en cours de confirmation) = 0,1%

### Prévalences par département



### ALERTE EN CAMARGUE !!!

Été-automne 2003, Nord-Est du Var, contamination autochtone :

- Une encéphalite humaine Ig M +
- Signalée par l'InVS et CNR arbovirus
- Épouse : syndrome grippal et IgM
- Contamination autochtone
- Cinq cas équins signalés par l'AFSSA



Réseau de surveillance renforcée



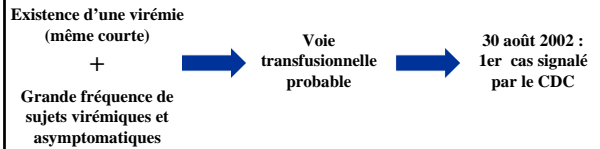
Enquête rétroactive de malades hospitalisés dans le département en août et septembre : 5 cas supplémentaires  
 - 2 formes neurologiques, 3 syndromes pseudogrippaux  
 - Évolution favorable chaque fois

## Image pour tester le niveau de fatigue du public

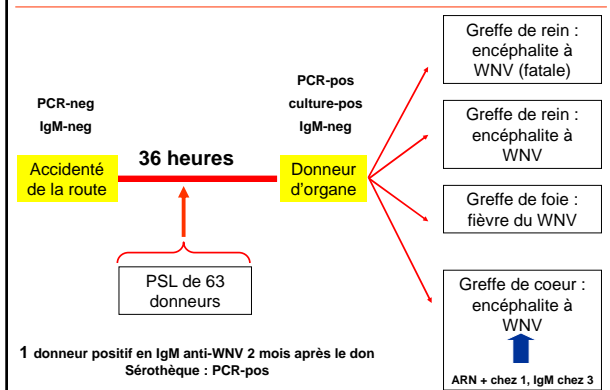
Si vous voyez deux dauphins sur l'image qui suit, tout va bien.

## Transmission transfusionnelle

Jamais rapportée avant 2002 dans aucune épidémie de WNV



## Contamination transfusionnelle et par greffe Août 2002, USA



## Transmission transfusionnelle aux USA en 2002

33 receveurs contaminés et symptomatiques

10 (43%) immunodéprimés (greffe et cancer)      8 (35%) > 70 ans

23 des 33 receveurs → 16 donneurs :

- Tous virémiques (et IgM négatif) le jour du don
- 9 signalèrent *a posteriori* une symptomatologie avant ou après le don
- Tous avaient été informés le jour du don sur les contre-indications

Pealer, NEJM 2003, 349: 1236-45

## Contamination transfusionnelle du WNV

Taux de virus parfois très bas chez les donneurs :

- Problème de sensibilité pour le DGV (100 copies/mL actuellement)
- Inoculum très faible => Contamination transfusionnelle efficace (comme la piqûre de moustique)

Transmission par les PSL déleucocytés ou non  
par les CGR, les plaquettes, le plasma

## Mesures transfusionnelles aux USA (1)

Pas de facteur de risque chez les donneurs (piqûre de moustique !)

Mai 2003, recommandations de la FDA :

- Questionnaire sur la symptomatologie dans les jours précédant le don
- Retrait du don si un symptôme est signalé par le donneur après le don
- Intervalle à prendre en compte : 14 jours avant le don, 28 après

## Mesures transfusionnelles aux USA (2)

1er Juillet 2003 (avant la saison des moustiques) : DGV sur chaque don sur l'ensemble du territoire

Roche : minipool de 6 sur PCR en temps réel (détecte WNV et autres virus du complexe de l'encéphalite japonaise)  
GenProbe-Chiron: minipool de 16 sur TMA (spécifique du WNV)

Maintien des mesures de sélection sur la symptomatologie (mais la majorité des formes sont asymptomatiques)

Exclusion transitoire des sujets récemment infectés :

- Au minimum 28 jours après le début des symptômes
- Au minimum 14 jours après la guérison

## Bilan du DGV aux USA

- Corrélation avec la géographie et l'intensité de l'épidémie
- > 1000 contaminations transfusionnelles évitées en un an
- Contraste avec les prévalences du DGV pour VIH et VHC
- Rapidité du contrôle du risque (grâce à la systématisation préalable du DGV)
- Risque résiduel post-DGV : don négatif en DGV-minipool
  - DGV unitaire rétroactif : positif (24-200 copies/mL)
  - Tous IgM négatif
- Recommandations CDC : DGV unitaire dans régions très épidémiques

## Situation aux USA en 2003 et 2004

- 2003
  - 818 donneurs positifs en DGV
  - 6 cas de transmission post-DGV
- 2004
  - 188 donneurs positifs en DGV
  - 1 cas de transmission post-DGV (avant le DGV unitaire des régions à haut risque)

## Paramètres de la situation transfusionnelle en France métropolitaine

- Positivité sérologique d'oiseaux et de chevaux en Camargue.
- Séroprévalence chez les donneurs de sang dans des départements de l'arc méditerranéen.



## Mesures de sécurité transfusionnelle en France (1)

- Exclusion des donneurs symptomatiques
- Exclusion transitoire des donneurs ayant séjourné en Amérique du Nord pendant la période estivale :
  - Préconisée par le groupe BOTIA \*
  - Appliquée par l'EFS en 2003 : exclusion de 28 jours après retour d'une région endémique (1er juin-31 oct)

\* J.J. Lefèvre et al, *Lancet*, 2003, 361: 2083-4

## Mesures de sécurité transfusionnelle en France (2)

- Exclusion du don dans 4 départements du sud-est (Var, Bouches-du-Rhône, Gard, Hérault) et aux Antilles pour la période juin-novembre
  - Diagnostic avéré : 28 J après le début des symptômes ou après le diagnostic biologique
  - Fièvre inexpliquée : 28 jours après le début
  - Antécédents de fièvre : 14 jours après sa disparition
- Mesure nationale d'exclusion :
  - Donneurs revenant d'une région endémique (USA, Canada, Israël, Tunisie, Portugal) : 28 jours à partir du départ du pays

### Mesures de sécurité transfusionnelle en France (3)

- Les donneurs sont informés de la nécessité de signaler tout éventuel symptôme survenu après le don
- En cas de mise en évidence de cas d'infection documentée dans une région donnée, la collecte des dons de sang serait transitoirement interrompue auprès des sujets vivants dans cette région ou y ayant récemment séjourné

2004

- ❖ **Aucun cas humain détecté dans le Sud-Est**
- ❖ **24 cas équins en Camargue**
- ❖ **8 cas aviaires (oiseaux sentinelles) en Camargue**

### Différences entre l'épidémie nord-américaine et l'infection dans le Bassin méditerranéen

- ❖ **Facteurs liés au virus (pathogénicité des souches)**
- ❖ **Facteurs d'hôte (réactions croisées avec autres flavivirus)**
- ❖ **Vecteurs (moustiques) et migration des réservoirs (oiseaux)**

### Conclusions (1)

#### Aux USA :

- DGV durant l'année entière (saisonnalité de l'épidémie): stratégies de mise en route et d'interruption du DGV unitaire
- Screening pendant combien d'années : colonisation définitive du territoire nord-américain ?

#### En France :

- Virus dans le sud-est : circulation limitée en temps et espace
- Aucun transfusionnel mis en évidence.
- Pas de dépistage biologique dans les dons de sang
- Pas à ce jour un problème de santé publique.
- Surveillance des départements méditerranéens

### Conclusions (2)

**Intervalle de temps entre la découverte du virus et le dépistage transfusionnel :**

<b>VHB</b>	<b>3 ans</b>	<b>(1967-1970)</b>
<b>VIH</b>	<b>2 ans</b>	<b>(1983-1985)</b>
<b>VHC</b>	<b>1 an</b>	<b>(1989-1990)</b>
<b>WNV</b>	<b>66 ans</b>	<b>(1937-2003)</b>

### Conclusions (3)



En 2002, les experts considéraient que la plus grande menace transfusionnelle était un agent émergent donnant une infection chronique chez les donneurs (caractéristique des virus transfusionnels « majeurs »)

Jamais de certitude en matière de sécurité transfusionnelle :

L'arche de Noé a été construite par des amateurs.  
Le Titanic par des professionnels.