



ELSEVIER
MASSON

Disponible en ligne sur
 ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France

www.em-consulte.com

TRANSFUSION
CLINIQUE ET BIOLOGIQUE

Transfusion Clinique et Biologique 18 (2011) 133–139

État de l'art

Dix ans de diagnostic génomique viral : leçons et perspectives

Ten years of nucleic acid testing: Lessons and prospects

P. Morel

Établissement français du sang de Bourgogne Franche-Comté, 1, boulevard A.-Fleming, 25000 Besançon, France

Disponible sur Internet le 11 mars 2011

Résumé

Le diagnostic génomique viral est réalisé systématiquement sur les dons de sang en France depuis le 01/07/2001. C'est l'histoire d'une décision controversée. « L'inacceptable risque VIH », dans le contexte du début des années 2000, a pesé sur cette décision. Le bilan de ces presque dix ans est réalisé au vu des avancées escomptées de ce nouvel outil de dépistage des agents infectieux en transfusion et confirme la pertinence des modèles des experts. Sur les 22,3 millions de dons de la période (2001–2009), 22 dons ont été écartés du seul fait du diagnostic génomique viral, pour le virus de l'hépatite C ($n = 11$) et pour le virus de l'immunodéficience humaine ($n = 11$). Le diagnostic génomique viral a contribué à l'amélioration du fonctionnement des activités de la chaîne transfusionnelle afin de garantir la disponibilité des produits sanguins. En matière de réactivité vis-à-vis d'agents infectieux émergents, l'action menée vis-à-vis du virus du Nil Occidental est exemplaire, mais le diagnostic génomique viral n'a pas été une aide dans les autres crises du même ordre. L'arrêt du dosage des transaminases est à porter au crédit du diagnostic génomique viral. Le risque de contamination de la méthode par les produits d'amplification s'est vérifié et la prudence en la matière reste de mise. Le diagnostic génomique viral est maintenu et a franchi en 2010 une nouvelle étape avec l'introduction d'un automate, en abandonnant le dépistage en pool et en généralisant le dépistage du virus de l'hépatite B. La poursuite du diagnostic génomique viral pourrait être révisée lorsque les méthodes d'inactivation des pathogènes seront en place pour tous les produits sanguins.

© 2011 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Mots clés : Transfusion ; DGV ; Qualification biologique des dons ; VIH ; VHC

Abstract

Nucleic acid testing has been routinely performed in all blood donations in France since July 1st 2001. This is the story of a controversial decision. "The unacceptable HIV risk" in the context of the early 2000s influenced the decision. The results achieved over these past 10 years are analyzed given the expected progress of this new screening tool for infectious agents in transfusion. They confirm the relevance of models used by experts in 2000. Out of 22.3 million donations over the period (2001–2009), 22 donations have been rejected because of nucleic acid testing positive for hepatitis C virus ($n = 11$) and human immunodeficiency virus ($n = 11$). Nucleic acid testing has contributed to improve the functioning of the transfusion chain activities in order to ensure the availability of blood products. In terms of reactivity against emerging infectious agents, its role in the West Nile virus (WNV) outbreak is exemplary, but it did not play a similar role in crises of the same order. ALT determination has been stopped thanks to nucleic acid testing. The risk of contamination of the method by amplification products has been confirmed and caution is still required. Nucleic acid testing is being maintained and reached a new milestone in 2010 with the implementation of a full automated system, meanwhile pool screening was given up and hepatitis B virus screening became widespread. Nucleic acid tests will probably be revised when all blood products are pathogen-inactivated.

© 2011 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

Keywords: Transfusion; NAT; Blood screening; HIV; VHC

1. Introduction

La question, en 2000, de la mise en place, et aujourd'hui du maintien du diagnostic génomique viral en France, ne fait plus débat ou plutôt n'a plus de raison de faire débat. Le choix

Adresse e-mail : pascal.morel@efs.sante.fr

arrêté en 2001 est le fruit d'une histoire, celle de la transfusion, avec la prise de conscience brutale du risque, l'irruption du principe de précaution, l'inadmissibilité de l'alea thérapeutique et l'obligation de résultat de la transfusion (en remplacement de l'obligation de moyen). Au cours de ces presque dix ans de diagnostic génomique viral, le service qu'il a rendu est au niveau des prévisions estimées à sa mise en place. La technologie a été intégrée sans difficulté en qualification biologique des dons et le diagnostic génomique viral n'a pas eu de conséquence notable sur la disponibilité des produits sanguins labiles. L'histoire se poursuit en attendant la panacée universelle que constitue l'inactivation des pathogènes dans tous les produits sanguins, seule de nature à conduire à une éventuelle remise en cause du dépistage génomique du virus de l'immunodéficience humaine (VIH) 1, du virus de l'hépatite C (VHC) et désormais du virus de l'hépatite B (VHB).

2. Histoire d'une décision

2.1. Contexte avant le diagnostic génomique viral

Depuis l'introduction en 1985 du test de dépistage du VIH en transfusion sanguine en France, la réduction du risque résiduel viral a été une obsession. L'importance même accordée au risque viral a, dans une certaine mesure, faussé la hiérarchisation des risques et leur prise en compte. On peut citer le retard à la reconnaissance du risque bactérien ou de *transfusion-related acute lung injury* (TRALI). Au sommet de la pyramide, trône le risque VIH qui est dans la longue liste des risques viraux, le risque qui fausse la perception des risques viraux en éclipant les autres, dont le risque VHC. Celui-ci pourtant constituait un enjeu de santé publique considérable au début des années 1990 [1]. Vis-à-vis du risque VIH « tout ce qui est possible doit être fait... » sous-entendu, quoi qu'il en coûte. La progression de la réflexion en matière de prévention du risque VIH a cependant été marquée par une série de décisions qui apparaissent, aujourd'hui courageuses. Lorsqu'en 1994, à la faveur de tests commerciaux applicables en qualification biologique des dons, la question de l'intérêt du dépistage de l'antigène P24 (AgP24) en complément de la sérologie VIH, complétée d'un second test anticorps est posée, la réponse est négative pour l'introduction du second test lors du dépistage et pour l'introduction de l'AgP24, alors que nous sommes en pleine période de scandale du sang contaminé [2]. En 1996, la question est remise à l'ordre du jour du fait de la décision américaine de réaliser le dépistage de l'AgP24 dans la sélection biologique des donneurs. La décision reste invariable : le dépistage de l'AgP24 ne sera pas associé au dépistage des anticorps. Il y avait pourtant un gain sur la fermeture de la fenêtre sérologique qui aurait pu conduire à un don par an écarté grâce à l'AgP24. L'hypothèse d'un « *magnet-effect* » qui aurait attiré vers le don de sang, pour le seul intérêt d'un dépistage précoce, des donneurs plus exposés à la contamination VIH, avait pondéré le gain en termes de sécurité. Le contexte de 1994 et 1996 était favorable aux arguments scientifiques et le choix de les suivre était acceptable.

2.2. L'irruption du diagnostic génomique viral

La capacité de révéler la présence d'un virus par la présence de son génome grâce à la *polymerase chain reaction* (PCR) a été introduite en virologie au milieu des années 1980. Elle est donc en usage depuis près de 15 ans en 2000, mais reste confinée dans des laboratoires de diagnostic avec une réputation de fragilité et de fastidieuse mise en œuvre. En 1998, apparaît sur le stand Gen-Probe au congrès de l'AABB de Philadelphie, l'automate Tigris (Gen-Probe) destiné à effectuer la recherche des ARN (acide ribonucléique) des virus VIH et VHC en grande série avec une prise d'essai et une robustesse compatible avec la qualification biologique des dons. S'il est évident que ces méthodes vont être disponibles et applicables en transfusion, peu de ceux qui les découvrent imaginent que ce dépistage sera généralisé en France dès 2001 [3]. L'exemple de l'apparition de la biologie moléculaire en immunogénétique et sa place déjà prépondérante dans cette discipline aurait pu nous alerter. Le travail d'appropriation des méthodes de diagnostic génomique viral disponibles a été immédiat, encouragé et soutenu par les industriels. Dès 1999, des candidats à l'évaluation de ces méthodes se font connaître. Il y avait une envie, un enthousiasme, qui ont permis qu'en peu de temps les laboratoires soient opérationnels et les personnels formés.

2.3. Prévention du risque virus de l'hépatite C, l'ombre du risque virus de l'immunodéficience humaine

L'accession possible à des techniques de biologie moléculaire conçues pour la grande série et le dépistage de masse, ouvre alors un nouveau champ d'amélioration de la sécurité virale. Le périmètre de ce champ, à l'époque ne concerne, en termes d'intérêt sanitaire, que le risque VHC compte tenu des performances de ces méthodes et de leur application à des pools d'échantillons [4,5]. Le risque VHC trouve sa juste reconnaissance : il est pour la période 1997–1999, deux fois supérieur au risque VIH (1/700 000 dons contre 1/1 400 000 dons pour VIH) [5]. De nouvelles exigences apparaissent par ailleurs en termes de prévention de la transmission de l'hépatite C par les médicaments dérivés du sang, obtenus par fractionnement du plasma. Ces exigences ont contribué à la définition de ce qu'il conviendrait d'attendre du diagnostic génomique viral [6,7]. C'est légitimement pour la prévention du risque de transmission de l'hépatite C que le diagnostic génomique viral a été proposé en 1999, que le cahier des charges a été rédigé et que les experts se sont prononcés. Le dépistage de l'ARN du VIH avait été éliminé, le risque résiduel jugé « insignifiant » et la performance des méthodes en pool insuffisantes pour apporter un progrès significatif [2]. Cependant, le dépistage VIH était inclus d'office dans un test multiplex (VIH-1–VHC) dans l'une des méthodes disponibles et tout en n'étant pas de la première intention, l'aubaine était trop belle et son inclusion dans le périmètre devint incontournable.

2.4. Une étude de faisabilité nationale

En janvier 2000, débutait une étude de faisabilité multicentrique nationale qui évaluait quatre méthodes de diagnostic

génomique viral, deux faisaient appel à la technologie *transcription mediated amplification* (TMA) l'une en pool de huit échantillons et l'autre en test unitaire. Les deux autres faisaient appel à la PCR dans les réactifs Ampliscreen VIH et VHC automatisés sur Cobas, couplées à deux méthodes différentes d'extraction : BioRobot (Quiagen) dans un cas et Extractor Nuclisens (Organon Teknica) dans l'autre cas. Le rapport d'évaluation était remis à l'été 2000. La faisabilité était confirmée et le choix d'une (ou plusieurs méthodes) pouvait être décidé [7]. La mobilisation des biologistes et de l'ensemble des services de l'Établissement français du sang (EFS) autour de ce projet a été remarquable. Ce n'était pas étonnant que les « transfuseurs » proposent et s'engagent dans cette nouvelle ère technologique, l'excitation d'un mieux faire et du nouveau champ d'investigations qui s'ouvraient ne pouvaient que les motiver, ce d'autant que la crainte était grande, de leur part, que les regroupements d'activité ne soient un frein à la recherche et au développement. Par ailleurs, il faut logiquement s'attendre à ce que le producteur des produits sanguins labiles, le professionnel de la transfusion soit le plus offensif pour améliorer la qualité de sa production et qu'il fasse toutes les propositions qui conduisent à développer sa discipline. C'est finalement aux tutelles, les mieux à même de comparer les ratios bénéfices/risques des différentes mesures proposées à l'amélioration de tous les aspects de la santé publique, que reviennent, les arbitrages et la décision. Alors que la transfusion mettait en place le diagnostic génomique viral, combien de carrefours, plusieurs fois meurtriers par an auraient pu être corrigés avec les montants financiers investis dans cette mesure en transfusion.

2.5. *Décision de mettre en œuvre*

L'étude nationale a démontré la faisabilité du diagnostic génomique viral systématique sur tous les dons. Elle a permis de préciser les méthodes qui étaient les plus recevables et confirmé la dimension pertinente des pools d'échantillons à tester [7]. Le groupe d'experts missionnés par le directeur général de la santé a rendu son rapport en décembre 1998 [4]. Son avis était qu'il ne fallait pas mettre en œuvre le diagnostic génomique viral en transfusion, sur la base d'un rapport coût/efficacité très défavorable. Un second rapport commandé par l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (Afssaps), rendu en 2000, confirme cette première conclusion et ajoute qu'il n'y a pas lieu non plus, d'implémenter le dépistage du VHC. Les évaluations en 2000, de coût/efficacité, montraient que le coût d'une hépatite C évitée grâce au diagnostic génomique viral était compris entre deux et quatre millions euros, le coût d'une pathologie sévère évitée était compris entre 126 et 320 millions euros [5]. L'annonce par les autorités de tutelles en février 1999 de la mise en œuvre du diagnostic génomique viral en transfusion (parue entre les deux rapports) sera confirmée en octobre 2000.

Le contexte de la prise de cette décision est très différent de celui qui régnait lors de la réflexion pour l'AgP24 et le poids cumulé du choix d'autres pays (l'Allemagne, le Royaume-Uni avaient annoncé qu'ils mettaient en œuvre le diagnostic génomique viral en transfusion), du procès du sang contaminé en cours à cette période et de la réorganisation de la transfusion

(la création de l'EFS) a été considérable [2]. Ces considérations initialement périphériques de la réflexion ont fait passer au second plan les arguments médicaux qui avaient prévalu en 1994 et 1996. Dans ce contexte, l'importance de l'affichage du diagnostic génomique viral VIH a indéniablement pesé sur la décision. La notion de risque acceptable qui doit guider les choix des mesures à mettre en œuvre sur la base objective de l'évaluation de leur coût/efficacité ne s'est pas s'appliquer au risque viral, plus exactement au risque VIH.

2.6. *Devenir de la décision*

Il est devenu impossible de revenir sur cette décision. Le bilan que nous présentons dans la suite a confirmé les estimations des experts. Dix ans après cette décision d'introduction du diagnostic génomique viral, au moment du bilan et lorsque la question d'un saut technologique (automatisation, passage en test unitaire, introduction du VHB) est posée, la réponse ne peut pas être un recul. Sortir du diagnostic génomique viral n'est plus pensable. La raison médicale ne peut plus s'imposer face au contexte international, à la pression des industriels, aux scandales médicaux qui repoussent encore la tolérance de l'alea thérapeutique et une nouvelle fois la réorganisation de l'EFS. Il faut bien souligner que si c'est pour le risque VHC, à l'époque prépondérant, qu'il a été introduit (contre l'avis des experts qui jugeaient le rapport coût/efficacité défavorable), c'est aujourd'hui pour le risque VIH que le diagnostic génomique viral est le plus justifié. Le seul gain sur le risque VIH suffit aujourd'hui pour poursuivre le diagnostic génomique viral. Le calcul coût/efficacité n'a pas été actualisé, c'est certainement inutile, juste de nature à raviver la polémique sur les priorités de santé publique.

3. Bilan

À l'introduction du diagnostic génomique viral, outre la meilleure maîtrise du risque viral, l'EFS se dote d'une nouvelle technologie, de la biologie « moderne », susceptible de lui permettre de développer de nouvelles stratégies de dépistage et notamment d'accroître sa réactivité vis-à-vis d'infections émergentes et faciliter l'adaptation du dépistage aux enjeux futurs.

3.1. *Organisation*

L'introduction du diagnostic génomique viral a fait redouter une réduction de la disponibilité des produits sanguins labiles, du fait de l'allongement de la durée de la qualification et des risques d'échecs de l'analyse (séries d'analyses invalides). Le diagnostic génomique viral a été une occasion de revisiter l'organisation de la chaîne de production des produits sanguins labiles. Les modifications réalisées ont permis de garantir la disponibilité des produits sanguins labiles, des concentrés de plaquettes notamment. Un régime dérogatoire pour les dons dirigés (concentrés de granulocytes et concentrés de plaquettes HLA ou HPA compatibles) permet de les délivrer sans que le résultat du diagnostic génomique viral ne soit encore connu [8]. Ces dérogations ne s'appliquent à aucune autre situation.

Tableau 1
Bilan du diagnostic génomique viral pour l'hépatite C sur 22,3 millions de dons en France du 01/07/2001 au 31/12/2009.

Résultat du diagnostic génomique viral	Résultat du dépistage des anticorps	n = 2046
Positif	Positif	1421 (69,5 %)
Positif	Négatif	13 (0,6 %) ^a
Négatif	Positif	612 (29,9 %)

^a Neuf dons dans la fenêtre silencieuse (dont un don alanine aminotransférase élevé et dont un anticorps HBc positif) ; un cas immunosilencieux ; trois cas non revus.

3.2. Meilleure maîtrise du risque viral

Le diagnostic génomique viral a effectivement permis d'éviter la transmission transfusionnelle d'infections VHC et VIH. De la généralisation du diagnostic génomique viral en juillet 2001 à fin 2009, 22 dons (soit 2,6 dons par an) ont été écartés sur la seule information de la présence d'ARN viraux (données Institut national de veille sanitaire [INVS]/Institut national de transfusion sanguine [INTS] communication personnelle de J. Pillonel et S. Laperche). Entre le 1^{er} juillet 2001 et le 31 décembre 2009, 22,3 millions de dons ont été testés pour le VHC et pour 1434 d'entre eux, l'ARN viral a été dépisté. Les anticorps anti-VHC n'étaient pas détectables pour 13 de ces 1434 dons VHC-positifs (0,6 %) et pour deux d'entre eux, des marqueurs indirects auraient conduit à la non-conformité du don (ALT augmentées ; AchBc positif). Au total, pour 11 dons sur 22,3 millions, le diagnostic génomique viral positif a donc permis, seul, d'éviter la possible transfusion des produits du don à risque de transmission de l'hépatite C (Tableau 1). Sur la même période et le même nombre de dons, ce sont 295 dons pour lesquels l'ARN du VIH a été dépisté. Les anticorps anti-VIH n'étaient pas détectables pour 12 de ces 295 dons VIH-positifs (3,9 %) et pour l'un d'entre eux, un marqueur indirect (AchBc positif) aurait conduit à la non-conformité du don. Au total, pour 11 dons sur 22,3 millions, le diagnostic génomique viral positif, seul, a donc permis d'éviter la possible transfusion des produits d'un don à risque de transmission du VIH (Tableau 2). Le diagnostic génomique viral ferme la fenêtre sérologique de 50 % pour VIH. Le risque de ne pas écarter un don infectieux qui aurait un dépistage des anticorps négatif et diagnostic génomique viral négatif subsiste et continue à être observé [9]. Au cours de ces dix ans de diagnostic génomique viral en France, un cas de

Tableau 2
Bilan du diagnostic génomique viral pour le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) sur 22,3 millions de dons en France du 01/07/2001 au 31/12/2009.

Résultat du diagnostic génomique viral	Résultat du dépistage des anticorps	n = 305
Positif	Positif	283 (92,8 %)
Positif	Négatif	12 (3,9 %) ^a
Négatif	Positif	10 (3,3 %) ^b

^a Un anticorps HBc positif.

^b Trois HIV-2, six HIV-1 à charge virale faible, un HIV-1 gO.

transmission transfusionnel du VIH à été documenté en 2001 [10].

3.3. Validité du modèle prévisionnel

Le modèle d'évaluation du risque résiduel et son extrapolation au devenir de ce risque après l'introduction du diagnostic génomique viral doivent être jugés pertinents au terme de ces dix ans de recul. Au total, 22 dons à risque ont été écartés grâce au diagnostic génomique viral. Sur la base de 1,2 produit sanguin labile par don, retenue dans le rapport des experts en 2000, ce sont donc 26 infections qui ont été évitées. Pour le VHC, le résultat est en deçà (11 dons diagnostic génomique viral positif/anticorps négatif) de la prévision qui annonçait trois dons par an (un à sept), soit 25 dons (de neuf à 63) sur la période, écartés du seul fait du diagnostic génomique viral et 34 infections évitées [5]. La différence est directement liée à l'évolution de l'épidémie. Comme l'avaient évoqué les experts, sur la base de l'observation de la fin des années 1990, le nombre de cas d'infections par le VHC s'est considérablement réduit au cours de la période et c'est cette évolution qui explique la réduction du risque VHC.

Pour le VIH, le modèle annonçait moins d'un don par an (zéro à deux), soit sept dons écartés du seul fait du diagnostic génomique viral sur la période 2001–2009 et huit infections évitées. Avec 11 dons réellement écartés, la prévision sous-estimait l'apport du diagnostic génomique viral, mais reste dans la proportion attendue compte tenu de l'effectif et l'estimation du modèle se vérifie. Il faut souligner que la réduction de l'incidence du VIH depuis 2003 ne s'est pas faite dans les mêmes proportions que pour le VHC et surtout qu'elle n'est pas homogène. Elle n'a par exemple pas diminué dans la population des hommes qui ont des relations sexuelles avec des hommes [11].

3.4. Arrêt du dosage des alanine amino transférasés (ALAT)

La mise en œuvre du diagnostic génomique viral a été déterminante dans la décision d'arrêter le dosage des transaminases (ALAT) qui avait été introduit en 1987 pour limiter la transmission des hépatites non A non B (HNANB). Le dosage de cette enzyme conduisait irrémédiablement à la non-conformité de 2 à 2,5 % des dons du seul fait de son taux anormal. Ce paramètre, marqueur d'hépatolyse, est très peu spécifique d'une infection virale. Outre le nombre de dons perdus, ce sont aussi de nombreux donneurs qui ont été évincés du don au fil des années. Le lien établi entre HNANB et hépatite C et la mise en œuvre de son dépistage par le diagnostic génomique viral justifiaient cet arrêt du dosage des ALAT qui a été effectif en 2003 [12].

3.5. Réactivité vis-à-vis de nouveaux risques infectieux

Le seul exemple d'apport du diagnostic génomique viral à la prévention d'un risque nouveau viral (risque émergent) a été l'ensemble des actions menées vis-à-vis du virus du Nil Occidental (VNO). Cette action (ou série d'actions) illustre ce qui avait été escompté lors de l'introduction du diagnos-

tic génomique viral. Le caractère transmissible du VNO par la transfusion et la greffe d'organe a été confirmé au États-Unis en 2002 [13]. Le dépistage du VNO par la détection de son ARN a été rapidement retenu comme la seule stratégie pertinente pour réduire ce risque transfusionnel. En Amérique du Nord où sévissait l'épidémie, le dépistage de l'ARN viral a été introduit dès le milieu de 2003 [14]. Le VNO est présent dans le sud de la France et le danger d'une réémergence du virus et d'un possible renforcement de sa virulence ont conduit à préparer les modalités de son dépistage à l'image de ce qui s'est mis en place en Amérique du Nord. En 2004, les équipes de qualification biologique des dons des EFS Pyrénées-Méditerranée et Alpes-Méditerranée ont été formées à ce dépistage diagnostique génomique viral et un kit de 5000 tests a été maintenu en réserve en France par le fournisseur (Chiron-Novartis) au cas où une épidémie de VNO se produirait. Il était théoriquement possible de débiter le dépistage de l'ARN du VNO dans les 15 jours qui suivraient une réémergence du virus. Le cas ne s'est pas produit. Les cas de VNO découverts chez les animaux au cours de ces dix années ont conduit à des renforcements de la surveillance et des précautions de sélection des donneurs. Aujourd'hui, un test de dépistage est disponible sur l'automate Tigris et le dépistage pourrait intervenir dans un délai encore moindre en cas de survenue d'une épidémie.

Vis-à-vis du risque Chikungunya à la Réunion en 2005–2006, le scénario de réduction du risque transfusionnel aurait pu être comparable. Le dépistage de l'ARN viral aurait pu être une alternative à l'arrêt du prélèvement des dons de sang total sur l'île. Dans le cas de ce virus, il n'existait pas de kits commerciaux de dépistage ou de test adaptable à la méthode en usage en qualification des dons. Vis-à-vis de cette épidémie, le diagnostic génomique viral n'a pas pu jouer le rôle imaginé lors de son introduction en 2001 et souligne la dépendance en la matière vis-à-vis du fournisseur de la méthode en usage.

3.6. Adaptation au risque

Une nouveauté du diagnostic génomique viral a été l'acceptation d'une hétérogénéité de pratique sur le territoire national. Dès l'origine, en 2001, le choix s'est tourné vers deux méthodes de diagnostic génomique viral réparties sur les 18 établissements régionaux, avec des tailles de pool d'échantillons différentes. Les performances des deux chaînes étaient comparables et l'argument qui soutenait cette option était le souhait de maintenir deux méthodes diagnostique génomique viral alternatives l'une de l'autre, compte tenu du peu de recul à l'époque, sur leur robustesse et leur pérennité. L'introduction du diagnostic génomique viral du VHB en 2005 dans les départements d'outre-mer est plus significative de cette volonté d'adapter le diagnostic génomique viral aux risques. Le risque VHB est significativement plus élevé dans les départements d'outre-mer (de l'ordre d'un don positif tous les 1000 dons), le choix a été d'y déployer ce dépistage dès qu'il a été disponible. La mesure ne sera généralisée en métropole qu'en 2010.

3.7. Risque de contamination de la méthode

Le risque redouté des méthodes d'amplification génique est celui de la contamination de la méthode par les produits d'amplification. Une fois la méthode « contaminée » chaque nouvelle analyse amplifie les produits d'amplification contaminants et tous les résultats des analyses sont positifs. Le choix s'est porté en 2001 sur des méthodes qui minimisaient considérablement ce risque. L'ensemble des mesures de prévention a été appliqué, de la formation des personnels et de l'organisation des locaux, aux contrôles de contamination. Malgré toutes ces précautions, plusieurs accidents de contamination se sont produits au cours de ces dix ans. Ils ont été généralement de gravités modérées et les conséquences minimales sur la disponibilité de produits sanguins labiles. Le plus sérieux s'est produit en 2007 dans le laboratoire de qualification biologique des dons de Dijon avec la méthode Transcription Mediated Amplification (Novartis). La Fig. 1 montre le pourcentage de résultats positifs sur la période. La contamination a persisté six semaines et une nouvelle chaîne de diagnostic génomique viral a dû être installée dans des locaux différents pour autoriser la reprise de l'activité. Les conséquences ont été minimisées grâce à l'entraide des laboratoires de qualification biologique des dons et l'organisation du réseau national. De cet accident de laboratoire, il faut retenir deux enseignements. Le premier est qu'il peut être nécessaire de délivrer des produits sanguins labiles, notamment des concentrés de plaquettes, sans que le résultat du diagnostic génomique viral ne soit encore connu en dehors des dérogations prévues par la loi [8]. En effet, dans les 24 heures qui ont suivi l'accident de contamination, deux concentrés de plaquettes d'aphérèse ont été délivrés en urgence sans le résultat de diagnostic génomique viral (empêché). Le second est que conformément à ce que l'on connaît de ces méthodes, une contamination peut empêcher le fonctionnement du laboratoire sur une longue période et que le *backup* doit être prévu en conséquence.

4. Perspectives

4.1. Le diagnostic génomique viral nouveau

Il a été déployé en 2010. Il se voit doté d'un automate (TIGRIS ; Novartis) qui sécurise encore la méthode, en métropole. Le dépistage du VHB a été associé au dépistage de VIH1 et VHC en métropole (comme il l'était déjà dans les départements d'outre-mer depuis 2005). Un seul fournisseur a été retenu pour la totalité de ce nouveau marché. La généralisation du diagnostic génomique viral du VHB n'est pas à proprement parler un choix médical. Le dépistage proposé par Novartis est un test « triplex » qui propose d'emblée le dépistage des trois virus (VIH-1, VHC et VHB). L'intérêt du diagnostic génomique viral du VHB sera modéré du fait, d'une part, des conséquences cliniques sévères plus limitées de VHB que VIH et VHC et de la vaccination des receveurs et, d'autre part, grâce au dépistage des anticorps anti HbC qui éliminent en France la majorité des infections occultes (*occult VHB infections*).

Une différence de traitement assumée subsiste : dans un premier temps coexistent la méthode historique en pool de huit

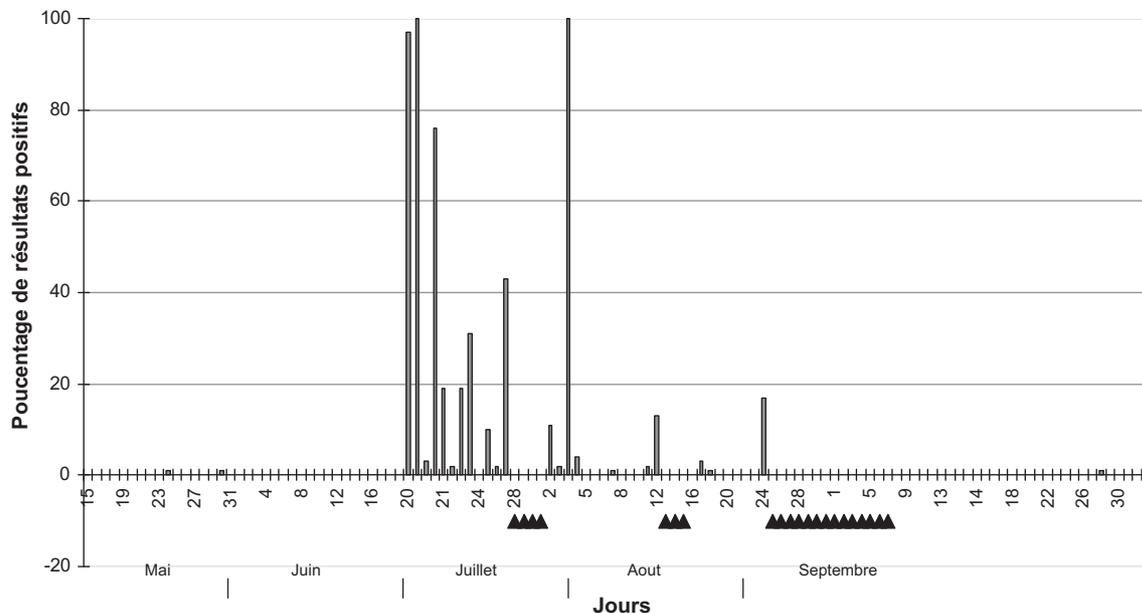


Fig. 1. Pourcentage de résultats positifs (barres de l'histogramme) au cours de la période de contamination du laboratoire de qualification biologique des dons de Dijon en 2007. Les ▲ marquent les jours de fermeture du laboratoire.

et le dépistage unitaire automatisé. À terme, la méthode sera effectuée dans tous les cas en test unitaire.

La relative fragilité du diagnostic génomique viral est corrigée avec le déploiement d'un automate qui limite encore les risques de contamination. La coexistence de plusieurs exemplaires de l'automate dans les laboratoires de qualification biologique des dons garantit un *backup* et la continuité du dépistage vis-à-vis de ce risque. Une demande d'extension de dérogation a été adressée au directeur général de la santé, afin d'autoriser l'utilisation de concentrés de plaquettes sans le résultat du diagnostic génomique viral lorsque celui-ci est empêché et qu'aucune alternative n'est trouvée (pas d'approvisionnement en concentrés de plaquettes testés, pas de report possible de la transfusion...). Dans les départements d'outre-mer, la chaîne historique reste en usage et le risque de contamination persiste à un niveau stable. Les difficultés d'approvisionnement en concentrés de plaquettes du fait de l'éloignement justifient cette évolution de la législation, afin de garantir la sécurité des malades en autorisant le cas échéant la transfusion de ces produits en l'absence de diagnostic génomique viral valide.

La méthode est fermée (couple automate/réactif) et la dépendance vis-à-vis du fournisseur est totale en matière d'adaptation à un nouveau risque infectieux. Le dépistage de la dengue en est le plus récent exemple. En dehors d'un engagement de Novartis dans ce dépistage, il ne peut pas y avoir de développement d'un test apte à répondre à toutes les contraintes d'un dépistage en cas d'épidémie.

4.2. Devenir du diagnostic génomique viral

Le diagnostic génomique viral est désormais dans l'arsenal biologique de dépistage des agents infectieux transmissibles par la transfusion. Il dépiste les trois virus majeurs de la transfusion et est en mesure d'intervenir ponctuellement dans le dépistage

de VNO. La menace virale persiste et l'actualité est là pour nous le rappeler avec les premiers cas de dengue et Chikungunya en métropole [15]. La présence du vecteur (le moustique) et la circulation du virus doivent faire redouter le développement de ces infections avec le retentissement transfusionnel désormais bien évalué. [16]. Avec le concours du fournisseur de la méthode, il sera possible de développer les analyses de biologie moléculaire vis-à-vis d'autres agents, nécessaires à garantir la sécurité des produits sanguins labiles à l'instar de ce qui a été développé pour le VNO.

Le recours aux méthodes d'inactivation des pathogènes dans les plaquettes a été la solution radicale lors de l'épidémie de Chikungunya à La Réunion et depuis, cette mesure a été généralisée dans les départements d'outre-mer [17]. L'avènement des méthodes d'inactivation des pathogènes dans tous les produits sanguins labiles sera probablement l'occasion de se reposer la question de la pertinence du maintien de ce dépistage.

Conflit d'intérêt

Pas de conflit d'intérêt.

Remerciements

Un grand merci à Pierre Gallian Syria Laperche, Josiane Pillonel pour leur aide. Merci à Brigitte et Béatrice pour la mise en forme du texte.

Références

- [1] Setbon M. Society and hepatitis C – knowledge, perceptions, and public action. *Transfus Clin Biol* 1997;4:329–38.
- [2] Setbon M. Risques sécurité sanitaire et processus de décision. Paris: Elsevier SA; 2004, 52 p.

- [3] Décret n° 2002-723 du 3 mai 2002 relatif aux analyses biologiques et tests de dépistage des maladies transmissibles effectués sur les prélèvements de sang et de ses composants et modifiant le code de la santé publique. JORF du 04 mai 2002.
- [4] Rapport du groupe d'experts au directeur général de la santé. Intérêt de la détection des acides nucléiques des virus VIH. In: VHB et VHC en matière de transfusion sanguine et de greffe; 1998.
- [5] Rapport du groupe d'experts sous l'égide de l'Agence française pour la sécurité sanitaire des produits de santé (Afssaps). Place du dépistage de l'Ag VHC dans la qualification des dons de sang de cellule et de tissus. Saint-Denis: Afssaps; 2000. Disponible sur: http://www.afssaps.fr/var/afssaps_site/storage/original/application/6be56139aeb215d7fd4f6dd09d515dde.pdf (accès le 30/1/2011).
- [6] Arrêté du 17 juin 1999 portant additif n° 43 à la Pharmacopée. JORF du 1 juillet 1999.
- [7] Cornillot C, Mercier B. Étude nationale de faisabilité. Paris: Établissement français du sang; 2000 [Rapport final, juin].
- [8] Arrêté du 3 mai 2002 relatif aux dérogations en matière d'analyses biologiques et de tests de dépistage sur les prélèvements de sang destinés à une utilisation en cas de nécessité thérapeutique impérieuse et en vue de préparer des produits sanguins labiles destinés à une utilisation autologue, pris en application des articles D. 666-4-1-III et D. 666-4-2 du Code de la santé publique. JORF 04 mai 2002.
- [9] Centers for Disease Control and Prevention (CDC). HIV transmission through transfusion – Missouri and Colorado, 2008. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2010;59:1335–9.
- [10] Najioullah F, Barlet V, Renaudier P, Guitton C, Crova P, Guérin JC, et al. Failure and success of HIV tests for the prevention of HIV-1 transmission by blood and tissue donations. *J Med Virol* 2004;73:347–9.
- [11] Données épidémiologiques sur l'infection à VIH/sida. 1^{er} décembre 2009. Saint-Maurice: Institut de veille sanitaire. Disponible à l'adresse: http://www.invs.sante.fr/presse/2009/communiqués/vih_sida_171109/dossier_de_presse_VIH_271109.pdf. [accès le 30/1/2011].
- [12] Décret du 28 novembre 2003 relatif aux analyses biologiques et test de dépistage des maladies transmissibles effectués sur les prélèvements de sang et de ses composants et modifiant le code de la santé publique. JORF du 04 décembre 2003.
- [13] Pealer LN, Marfin AA, Petersen LR, Lanciotti RS, Page PL, Stramer SL, et al. Transmission of West Nile virus through blood transfusion in the United States in 2002. *N Engl J Med* 2003;49:1236–45.
- [14] Stramer SL, Fang CT, Foster GA, Wagner AG, Brodsky JP, Dodd RY. West Nile virus among blood donors in the United States, 2003 and 2004. *N Engl J Med* 2005;5:451–9.
- [15] Gould EA, Gallian P, De Lamballerie X, Charrel RN. First cases of autochthonous dengue fever and chikungunya fever in France: from bad dream to reality! *Clin Microbiol Infect* 2010;16:1702–4.
- [16] Pillonel J, Brouard C, Laperche S, Barin F, Bernillon P, de Valk H, Groupe de travail Afssaps, EFS, INTS et InVS. Quantitative estimate of the risk of blood donation contamination by infectious agents. *Transfus Clin Biol* 2009;16:138–45.
- [17] Rasonglès P, Angelini-Tibert MF, Simon P, Currie C, Isola H, Kientz D, et al. Transfusion of platelet components prepared with photochemical pathogen inactivation treatment during a Chikungunya virus epidemic in Île de La Réunion. *Transfusion* 2009;1083–91.