

## **Document scientifique destiné aux directeurs médicaux et aux technologues des services transfusionnels hospitaliers**

### **Test d'amplification de l'acide nucléique pour le dépistage du VIH**

La Société canadienne du sang (SCS) a pour mission de fournir aux receveurs de transfusions les composants sanguins les plus sûrs possibles. Une nouvelle technique de dépistage, appelée *test d'amplification de l'acide nucléique* (TAN), a récemment été mise au point pour l'analyse des dons de sang. Elle repose sur l'amplification directe et la détection d'acides nucléiques viraux plutôt que sur la production d'anticorps par le système immunitaire de la personne infectée (1). Le type de TAN utilisé au Canada pour le dépistage des dons de sang est le test d'amplification en chaîne par polymérase (ACP). Au mois d'octobre 1999, la SCS a adopté le TAN pour dépister le virus de l'hépatite C (VHC) dans les dons de sang et de plasma. Elle s'apprête à mettre en application un test analogue pour le dépistage du virus de l'immunodéficience humaine (VIH).

#### **Contexte scientifique**

Bien que chaque unité de sang soit analysée afin de déceler toute trace d'infection par certains agents viraux (VHC, VIH, HTLV et VHB), on dénombre au moins quatre raisons pouvant expliquer pourquoi surviennent encore des cas de transmission de ces agents viraux par voie transfusionnelle (1,2). La principale raison tient au fait que les analyses de laboratoire auxquelles est soumis le sang du donneur donnent des résultats négatifs au début de l'infection. Cette période de latence sérologique est communément appelée « période silencieuse ». Le deuxième facteur contribuant au risque théorique d'infection par transfusion a trait à l'état de porteur chronique : un donneur ne présentant aucun symptôme clinique obtient toujours des résultats négatifs au test de dépistage des anticorps. Troisièmement, un agent viral peut être assez diversifié sur le plan génétique pour que les épreuves de dépistage en laboratoire ne parviennent pas à repérer certains donneurs porteurs d'une variante génétique atypique. Un quatrième facteur contribue en

théorie aux infections transmises par transfusion, à savoir la mauvaise exécution des tests de dépistage en laboratoire. Toutefois, compte tenu de la faible prévalence de donneurs infectés et de la grande exactitude des analyses automatisées, on estime que de telles erreurs sont extrêmement rares.

Les dons effectués pendant la période silencieuse sont la principale raison pour laquelle il existe encore des cas isolés de transmission du VIH par transfusion (2). D'après les nombreuses études menées au cours des 10 dernières années, les cas de porteurs chroniques asymptomatiques du VIH non dépistables par les tests de recherche d'anticorps sont extrêmement rares, voire inexistantes (2,3). Les antigènes recombinants du VIH utilisés dans les tests de détection d'anticorps actuellement autorisés permettent de déceler les anticorps dirigés contre toutes les variantes connues du VIH-1 ainsi que le VIH-2. Il est très peu fréquent qu'ils ne parviennent pas à détecter le VIH-1 groupe O, une souche extrêmement rare, particulièrement en Amérique du Nord (4,5). Le nombre de cas d'infection à VIH étant très faible parmi les donneurs de sang, les erreurs de laboratoires ne jouent qu'un rôle négligeable dans la transmission du VIH.

La méthode d'abord utilisée pour estimer la période silencieuse précédant la séroconversion au VIH était fondée sur l'analyse de renseignements fournis par des transfusés ayant reçu du sang de donneurs qui se sont par la suite révélés séropositifs. D'après les tests de recherche d'anticorps pratiqués à la fin des années 80, il a été conclu que la période silencieuse de l'infection durait 42 jours (6). Des études ultérieures, menées sur des échantillons provenant de cohortes à haut risque ont permis de comparer l'efficacité de ces tests à celle de tests de recherche d'anticorps anti-VIH plus récents. Selon ces études, la période silencieuse a été estimée à 22 jours (de 6 à 38 jours) en ce qui concerne les épreuves de détection d'anticorps utilisées à l'heure actuelle (7). Ces résultats ont été confirmés par des études effectuées auprès de 6 cohortes regroupant 394 sujets séroconvertis. Ces études ont permis d'évaluer la période silencieuse avec davantage de précision (de 16,5 à 28,3 jours), car elle portait sur un plus grand nombre d'individus (8). D'autres études réalisées sur des panels de séroconversion provenant de donneurs de plasma ont corroboré ces premières estimations. Il

n'a pas encore été démontré de façon expérimentale que les donneurs sont infectieux pendant toute la durée de la période silencieuse modélisée mathématiquement.

En outre, ces études ont conclu que les tests de détection de l'antigène p24 du VIH-1 réduisent cette période silencieuse de 22 jours à environ 16 jours, alors que les tests d'ACP effectués sur chaque don de sang, dont le seuil de détection est compris entre 200 et 400 copies d'ARN par millilitre, la réduisent à 11 jours (7,9).

Des chercheurs participant au projet REDS (*Retrovirus Epidemiology Donor Study*) ont combiné les données relatives à l'incidence du VIH et à la période silencieuse de l'infection, afin d'estimer les risques de transmission du VIH par la transfusion de sang prélevé pendant la période silencieuse. Avant la mise en application des tests de détection de l'antigène p24 du VIH-1, les chercheurs du groupe REDS avaient calculé que le risque de contamination par le VIH était de 1 sur 493 000 pour chaque don. Après l'introduction des tests, ce chiffre a été revu à la baisse, soit 1 pour 676 000 (2,10). Au Canada, le risque était estimé à 1 pour 913 000 avant l'instauration du test (11). Il faut toutefois garder à l'esprit que ces estimations ponctuelles admettent de grands intervalles de confiance. Par conséquent, il est difficile d'évaluer de façon précise les résultats escomptés en se dotant de tests plus sensibles, tels que le TAN pour le dépistage du VIH.

Pendant la phase de positivité de l'ARN du VIH et de négativité de l'antigène p24 du VIH-1, la charge virale dans le plasma est comprise entre 200 et  $10^5$  copies/ml et le temps de duplication virale est estimé inférieur à une journée (12). Compte tenu de ces titres viraux relativement faibles et du facteur de dilution lié au mélange des échantillons, le TAN pour le dépistage du VIH pendant la période silencieuse serait moins efficace lorsqu'il est effectué sur des mélanges que lorsqu'il est pratiqué sur des échantillons individuels (1). Cette hypothèse a été confirmée par un cas de transmission attribuable à un donneur qui avait fait un don durant la période silencieuse et pour lequel le TAN effectué sur des mélanges d'échantillons avait donné des résultats différents (13). On estime que le TAN réalisé sur des mélanges réduirait de 3 jours la période silencieuse délimitée selon les tests de détection de l'antigène p24, et de cinq jours lorsqu'il est effectué sur des échantillons individuels.

Les données obtenues des panels de séroconversion révèlent que plus de 10 000 copies d'ARN du VIH sont déjà présentes dans le sang lorsque l'antigène p24 devient décelable. Le TAN devrait donc être suffisamment sensible pour dépister dans des mélanges d'échantillons tous les dons positifs pour l'antigène p24 du VIH-1; les résultats obtenus aux États-Unis dans le cadre du dépistage des donneurs de plasma commercial en témoignent (14). Il devrait donc être possible d'abandonner les tests de détection de l'antigène p24, dès que suffisamment d'informations auront été réunies en ce sens et que le TAN du VIH sur mélanges d'échantillons aura été autorisé aux fins de dépistage de maladies transmissibles chez les donneurs de sang.

Avant de mettre en application le test de détection de l'antigène p24 du VIH-1, on en avait évalué le rendement en se fondant sur le modèle incidence/période silencieuse du groupe REDS. L'opération avait consisté à multiplier le résultat de l'estimation ponctuelle du taux d'incidence du VIH par la fraction d'une année au cours de laquelle le test dépisterait des donneurs en phase silencieuse virémique de pré-séroconversion (10). Le test étant estimé réduire de 6 jours la période silencieuse théorique de 22 jours, on a calculé qu'il détecterait un échantillon positif pour l'antigène p24 du VIH-1 et négatif pour les anticorps anti-VIH parmi 1,5 million de dons analysés (2,10). Durant les trois années et demie qui ont suivi le lancement du test aux États-Unis, 1 don sur 9 millions s'est révélé positif au test de détection de l'antigène p24, soit seulement 16 % du résultat prévu (15). Aucun don positif pour l'antigène p24 du VIH-1 et négatif pour les anticorps anti-VIH n'a été détecté au Canada. Cet écart entre les résultats escomptés et les résultats observés semble contester l'hypothèse selon laquelle des dons pourraient être effectués au cours de la période d'antigénémie précédant la séroconversion.

Compte tenu des taux d'incidence du VIH actuellement enregistrés aux États-Unis et du fait que le TAN du VIH pratiqué sur des mélanges réduirait de 10 jours la période silencieuse théorique de 22 jours pendant laquelle les anticorps ne sont pas décelables, il a été estimé qu'un tel test permettrait de relever, aux États-Unis, un cas d'infection à VIH sur 3,8 millions de dons négatifs pour les anticorps anti-VIH et l'antigène p24. Cette estimation s'est révélée juste pendant les 12 à 18 premiers mois d'application du test aux États-Unis. L'incidence du VIH chez les donneurs de sang étant plus élevée aux États-

Unis, le TAN sur mélanges d'échantillons devrait détecter moins de cas d'infection à VIH au Canada (16).

Selon les estimations, après la mise en application du TAN pour le dépistage du VIH, le risque d'infection à VIH post-transfusionnel devrait être réduit à 1 cas pour 1,3 à 1,6 millions de dons, en supposant que l'infection puisse survenir pendant toute la durée théorique de la période initiale de la fenêtre sérologique considérée comme infectieuse. Une expérience de transmission du virus menée récemment sur des chimpanzés a montré qu'un résultat négatif au test d'ACP de l'ARN du VIH effectué sur des échantillons de plasma pourrait révéler une absence d'infectivité au cours de la période initiale de la fenêtre sérologique – théoriquement infectieuse, ce qui laisse supposer que le risque de transmission du VIH est encore plus faible que ne l'indiquaient les estimations (17).

### **Mise en application**

Le programme de mise en application du TAN du VIH sera sensiblement identique à celui du TAN du VHC. Roche Diagnostics Canada a présenté à Santé Canada une demande d'essai expérimental. La SCS a pour sa part formulé une demande de modification de sa licence auprès de Santé Canada, afin d'utiliser le test d'ACP de dépistage du VIH, AmpliScreen 2.0, fabriqué par Roche Molecular Systems, pour la détection de l'ARN du VIH dans les dons de sang. La SCS lancera le TAN pour le dépistage du VIH après avoir obtenu l'approbation accordée selon ces procédures réglementaires. Ces analyses devant commencer avant l'autorisation du test, les règlements de Santé Canada ne permettront pas que soit apposée sur les composants sanguins une étiquette attestant qu'ils ont été soumis au TAN du VIH.

Lorsque le programme du TAN de la SCS sera entièrement opérationnel, toutes les unités de sang que la SCS collectera par la suite seront soumises à ce test. Cependant, dans les premiers temps, seule une partie des composants sanguins livrés aux hôpitaux aura subi le TAN du VIH. Le risque actuel de transmission du VIH par des unités négatives pour les anticorps anti-VIH étant très faible, les hôpitaux pourront continuer de transfuser sans

danger les unités non soumises au test, durant les premières semaines qui suivront sa mise en application. La SCS lancera un programme afin de fournir rapidement aux hôpitaux des unités de plasma frais congelé, de plasma surnageant de cryoprécipité et de cryoprécipité qui auront été soumises au TAN pour le dépistage du VIH. Dans les 120 jours (ou moins) suivant la mise en application de ce test, toutes les unités de plasma frais congelé, de plasma surnageant de cryoprécipité et de cryoprécipité non analysées par ce procédé seront retirées des stocks et remplacées par des produits provenant de donateurs dont le sang y aura été soumis.

En raison des limites des techniques disponibles, on soumettra au TAN du VIH des mélanges de 24 échantillons plutôt que les dons individuels. En outre, les tests présentant une grande complexité et nécessitant du matériel spécial, la réalisation des épreuves sera centralisée dans quatre laboratoires de la SCS situés à Halifax, à Ottawa, à Toronto et à Vancouver. Les échantillons provenant d'autres régions seront acheminés vers l'un de ces laboratoires. Le TAN du VIH nécessitant des tests supplémentaires, cette épreuve prendra entre une et deux heures de plus que les épreuves actuelles. Malgré l'allongement du délai d'exécution, la SCS a l'intention de ne distribuer les unités de produits sanguins aux hôpitaux qu'après avoir obtenu les résultats du TAN du VIH. Toutefois, dans de rares cas, il pourrait se révéler nécessaire de délivrer des composants sanguins négatifs pour les anticorps anti-VIH avant de connaître ces résultats. Il a été élaboré, dans cette éventualité, un plan d'urgence qui ne devrait servir qu'en période de grave pénurie de sang. Au cours des 15 mois suivant la mise en application du TAN du VHC, par exemple, la SCS a délivré à 16 occasions des plaquettes allogéniques pour lesquelles ce test n'avait pas été effectué. Les unités distribuées sans avoir fait l'objet du TAN du VIH porteront une étiquette « Épreuves non terminées » ainsi qu'une étiquette indiquant que le produit a été mis en circulation avant que les résultats du TAN ne soient connus.

Si un composant sanguin était livré à un hôpital avant d'obtenir les résultats du TAN du VIH et que les résultats se révélaient par la suite positifs, la SCS informerait rapidement l'hôpital afin qu'il puisse retirer de ses stocks l'unité en question. Dans les rares cas où des composants sanguins dont les résultats au TAN du VIH se révéleraient ultérieurement

positifs pourraient avoir été transfusés, il ne faudrait pas oublier que la transfusion aurait été pratiquée selon les protocoles d'analyse en vigueur, qui n'incluent pas le TAN du VIH. Dans de telles circonstances, il est recommandé d'informer rapidement le médecin du receveur et d'orienter le patient concerné vers un spécialiste des maladies infectieuses qui le suivra, le conseillera et pourra envisager une thérapie. La notification rapide d'une infection possible par le VIH pourrait être bénéfique pour le receveur, car il serait possible de commencer un traitement dès le début de l'infection et de le conseiller afin de prévenir la transmission secondaire du VIH.

Il est recommandé que les services transfusionnels des hôpitaux discutent de la mise en application du TAN pour le dépistage du VIH avec les médecins de l'hôpital qui prescrivent des transfusions sanguines, afin qu'ils comprennent les avantages de cette épreuve, la logistique de sa mise en application et l'éventuelle nécessité de prévoir des procédures pour la distribution, en cas d'urgence, d'unités n'ayant pas encore été soumises au TAN du VIH.

## Références

1. BUSCH, M.P., S.L. STRAMER et S.H. KLEINMAN. *Evolving Applications of Nucleic Acid Amplification Assays for Prevention of Virus Transmission by Blood Components and Derivatives*, in G. GARRATY, ed. Applications of Molecular Biology in Blood Transfusion, American Association of Blood Banks 1997, Bethesda, Md.
2. KLEINMAN, S.H., M.P. BUSCH, J.J. KORELITZ et G.B. SCHREIBER. *The incidence/window period model and its use to assess the risk of transfusion - transmitted HIV and HCV infection*, Trans Med Rev 1997;11:155-172.
3. CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. *Persistent lack of detectable HIV-1 antibody in a person with HIV infection - Utah, 1995*, MMWR 1996;45:181-5.
4. LOUSSERT-AJAKA, I., T.D. LY, M. CHAIX *et al.* *HIV-1/HIV-2 seronegativity in HIV-1 subtype O infected patients*, Lancet 1994;343:1393-94.
5. CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. *Identification of HIV-1 Group O infection - Los Angeles County, California, 1996*, MMWR 1996;45:561-64.
6. PETERSEN, L.R., G.A. SATTEN, R. DODD, HIV SEROCONVERSION STUDY GROUP *et al.* *Duration of time from onset of human immunodeficiency virus type 1 infectiousness to development of detectable antibody*, Transfusion 1994;34:283-89.
7. BUSCH, M.P., L.L.L. LEE, G.A. SATTEN *et al.* *Time course of detection of viral and serological markers preceding HIV-1 seroconversion; implications for blood and tissue donor screening*, Transfusion 1995;35:91-97.
8. BUSCH, M.P., G.A. SATTEN, S.A. HERMAN *et al.* *Time course and kinetics of HIV viremia during primary infection*, Transfusion 1996;36 (suppl.);41S (résumé).
9. BUSCH, M.P. *HIV and blood transfusions: focus on seroconversion*, Vox Sang 1994;67(S3):13-18.
10. SCHREIBER, G.B., M.P. BUSCH, S.H. KLEINMAN et J.J. KORELITZ. *The risk of transfusion transmitted viral infections*, N Engl J Med 1996;334:1685-1690.

11. REMIS, R.S., G. DELAGE et R.W. PALMER. *Risk of HIV infection from blood transfusion in Montreal*, CMAJ 1997;157:375-382.
12. BUSCH, M.P., G.A. SATTEN, S.A. HERMAN *et al.* *Time course and kinetics of HIV viremia during primary infection*, Transfusion 1996;36(suppl.);41S (résumé).
13. LING, A.E., K.E. ROBBINS, T.M. BROWN *et al.* *Failure of routine HIV-1 tests in a case involving transmission with preseroconversion blood components during the infectious window period*, JAMA 2000;284:210-214.
14. FIEBIG, E.W., C. HELDEBRANDT, R. SMITH *et al.* *HIV viremia preceding antibody seroconversion: detection by p24 antigen, minipool NAT and individual donation NAT*, Transfusion 2000;40 (suppl.);25S (résumé).
15. STRAMER, S., S. SALEMI, J.O. BRODSKY *et al.* *Comparison of four seroconverting blood donors identified by HIV-1 p24 antigen screening* (résumé), Transfusion 1998;38 (suppl.):2S.
16. KLEINMAN, S.H., S.L. STRAMER, L. MIMMS *et al.* *Comparison of preliminary observed yield of HCV and HIV minipool nucleic acid testing with predictions from the incidence/window period model*, Transfusion 2000;40 (suppl.):4S (résumé).
17. MURPHY, K.K., D.R. HENRARD, J.W. EICHBERG *et al.* *Redefining the HIV-infectious window period in the chimpanzee model: evidence to suggest that viral nucleic acid testing can prevent blood-borne transmission*, Transfusion 1999;39:688-93.

Questions et réponses sur le TAN du VIH — cliquez ici