

Risque infectieux VIH 1/2 transfusionnel au Bénin.

A. Zohoun (1)*, E. Lafia (2), D. Houinato (3) & S. Anagonou (1)

(1) Laboratoire de microbiologie, CNHU, 04 BP 156, Cotonou, Bénin.

(2) Laboratoire du programme national de lutte contre le sida, Cotonou, Bénin.

(3) Unité de neurologie, Faculté des sciences de la santé, Cotonou, Bénin.

*Correspondance : E-mail : comlanz@yahoo.fr

Manuscrit n° 2366. "Santé publique". Reçu le 30 octobre 2001. Accepté le 3 août 2004.

Summary: Risk of HIV 1/2 infection associated with transfusion in Benin.

Objective: To evaluate the residual risk of transmission of HIV 1/2 infection through transfusion of seronegative blood.

Methods: This study was carried out between January and July 2000. It was based on eight hundred and twenty-one (821) blood donors screened negative for HIV antibodies by ELISA using Vironostika® Uni-form II plus 0 (Organon Teknika). 675 (82.2%) were men and 146 (17.8%) women all aged between 18 and 56 years with a mean age of 25.5 ± 7.8 years. Serum aliquots of these seronegative blood donor were frozen and further tested with two tests: Enzymun-Test HIV Combi (Roche Immunodiagnosics) and Murex HIV Antigen Mab (Murex).

Results: Twenty six out of 821 (3.2%) seronegative specimens were repeatedly reactive for Enzymun-test. All were tested negative once again for anti-HIV antibodies by ELISA using Vironostika Uni-form II plus 0. Out of these 26, only one was repeatedly reactive for Murex. For further analysis of the 25 donors tested negative for Murex, only 9 came back for another donation five months later. All of them were tested negative for anti-HIV antibodies by ELISA (Vironostika).

Conclusion: Our study shows the existence of residual risk of transmission of HIV1/2 infection associated with transfusion of seronegative blood donors. This risk was higher in our countries compared with industrialised nations. Therefore implementing strategies should be a priority to avoid the residual risk and improve blood transfusion safety.

Résumé :

Objectifs : Evaluer le risque infectieux résiduel de transmission transfusionnelle de l'infection par le VIH 1 et 2.

Méthode : Etude prospective effectuée de janvier à juillet 2000, portant sur un échantillon de 821 donneurs de sang séronégatifs pour la recherche d'anticorps anti-VIH1/2 par technique immunoenzymatique (Vironostika® Uni-form II plus 0). Les sérums prélevés et aliquotés ont fait l'objet d'une recherche de l'antigénémie P24 par l'utilisation de deux tests de détection de performances différentes. Le premier : Enzymun-Test® HIV Combi (Roche Immunodiagnosics) est un test de 4^e génération, combiné pour la détermination simultanée d'antigènes P24 du VIH1 et d'anticorps anti-VIH1/2. Les échantillons positifs ont été recontrôlés à l'aide du test de 3^e génération de type Elisa Vironostika® Uni-form II plus 0 (Organon Teknika) pour s'assurer du caractère réellement négatif des échantillons et de la validité des tests effectués au niveau des structures transfusionnelles. Le second est le test Murex HIV Mab (Murex) détectant l'Ag P24 de VIH1.

Résultats : Vingt-six échantillons (3,2 %) ont été positifs par le test Enzymun-Test® HIV Combi. Tous ces 26 échantillons se sont révélés négatifs pour la recherche d'anticorps anti-VIH1/2 par le test Vironostika Uni-form II plus 0. Avec le test Murex HIV Mab, un seul échantillon sur les 26 a été positif. Notons que 9 des 25 donneurs négatifs avec le test Murex HIV Mab sont revenus pour un don ultérieur à 5 mois d'intervalle et ont tous été négatifs par la recherche d'anticorps anti-VIH1/2 par ELISA (test Vironostika Uni-form II plus 0).

Conclusion : Cette étude confirme l'existence d'un risque infectieux résiduel de transmission de l'infection par le VIH1 par la transfusion sanguine, justifiant les efforts à entreprendre ou à poursuivre à divers niveaux pour sa réduction et une amélioration significative de la sécurité transfusionnelle.

residual risk
p24 antigen
blood transfusion safety
hospital
Benin
Sub Saharan Africa

risque résiduel
antigène p24
sécurité transfusionnelle
hôpital
Bénin
Afrique intertropicale

Introduction

Au Bénin, depuis 1990, dans le cadre de la surveillance épidémiologique de l'infection par le VIH, le programme national de lutte contre le VIH/sida a mis en place un système de surveillance par site sentinelle ; ainsi dans des maternités choisies et pendant une période donnée, un échantillon sanguin est systématiquement prélevé chez les femmes enceintes. L'évolution des résultats obtenus de 1990 à 1999 a révélé une augmentation de la séroprévalence de 0,36 % à 4,1 % (1). Cela traduit, sans aucun doute, une progression de la

propagation de l'infection au Bénin comme dans la plupart des pays de l'Afrique, mais aussi un dépistage plus étendu et meilleur avec des tests plus performants et une insuffisance des programmes de lutte contre la pandémie impliquant un renforcement et une amélioration des stratégies et plans d'action pour contrer l'infection due au VIH/sida. Il s'agit de la séroprévalence VIH1/VIH2 ; les tests de dépistage utilisés sont discriminants et on observe que, dans 92 à 95 % des cas, il s'agit du VIH1 et que dans 2 % des cas il s'agit du VIH2 et de réactions croisées VIH1/VIH2.

Les principaux tests utilisés sont : VIRONOSTIKA® Uni-form II plus O, des laboratoires Organon Teknika, ICE HIV 1.0.2, des laboratoires Murex et ENZYGNOST anti-HIV plus des laboratoires Behring.

Si la transmission du VIH par voie sanguine est faible dans les pays occidentaux, tel n'est pas le cas dans nombre de pays en développement.

Une étude antérieure a retrouvé un risque de transmission du VIH par la transfusion sanguine au Bénin de 0,3 % en 1998 (20).

Il existe toujours un risque infectieux résiduel qui est un risque faible lié à la fenêtre sérologique précédant la séroconversion, période pendant laquelle on ne peut détecter par la recherche des anticorps un sujet récemment contaminé.

En Afrique subsaharienne, compte tenu du grand nombre de sujets infectés (13), le risque de transmission de l'infection par le VIH à partir de sang infecté, collecté chez des donneurs en période de séroconversion n'est pas négligeable et il importe de prendre des précautions appropriées pour le réduire.

La présente étude a été initiée pour évaluer le risque infectieux de transmission de l'infection par le VIH par la transfusion sanguine au Bénin et envisager des mesures pour renforcer la prévention.

Méthodologie

Nature

Il s'agit d'une étude prospective menée pendant sept mois, de janvier à juillet 2000, dans trois services de transfusion sanguine (service national de transfusion sanguine à Cotonou ; service départemental de transfusion sanguine de l'Ouémé à Porto-Novo ; service départemental de transfusion sanguine du Zou à Abomey) et le laboratoire de microbiologie du CHU de Cotonou.

Population d'étude

Tous les donneurs de sang ayant fait des dons dans les différentes structures concernées. Notons qu'au Bénin, tous les échantillons sanguins font l'objet, entre autres, d'un dépistage systématique du VIH1/2 par tests ELISA mixtes de type sandwich et ce au niveau de tous les services de transfusion. Tout don pour lequel les marqueurs VIH1/2 ont été détectés est écarté. Le test utilisé est le VIRONOSTIKA® Uni-form II plus O, des laboratoires Organon Teknika.

Echantillonnage

Taille de l'échantillon

La taille minimale de l'échantillon calculée par la formule : $N = \frac{z^2 \cdot p \cdot q}{e^2}$ (formule de Schwartz) avec N = nombre minimal de prélèvements ; $z = 1,96$ pour un risque d'erreur de 5 % ; $p = 1/422$, prévalence trouvée par une étude similaire effectuée au Cameroun (19), $q = 1-p$ et $e = 0,004$ (précision de nos résultats) est de 575 prélèvements. Le nombre de sérums testés a été de 821 répartis proportionnellement au nombre de dons de sang annuels par service de transfusion.

Méthode d'échantillonnage

Durant la période d'étude, nous avons inclus tous les sujets qui se sont présentés pour un don de sang jusqu'à concurrence du nombre prévu par service de transfusion.

Le seul critère d'inclusion est le statut sérologique négatif par technique ELISA pour la recherche des anticorps anti-VIH1/2.

Stratégie suivie

Elle a consisté en l'utilisation de deux tests pour la détection de dons potentiellement contaminant malgré la pratique correcte des techniques ELISA : le test combiné Enzymun-Test® HIV Combi et le test Murex HIV Mab. Nous avons évalué la possibilité de mettre en évidence d'éventuels dons de sang positifs mais échappant au test de référence le plus utilisé dans les services de transfusion. La méthodologie proposée a consisté à utiliser le test Enzymun-Test® HIV Combi disponible en plus grand nombre en premier palier pour tester des échantillons Ac anti-VIH négatifs à l'ELISA provenant des services de transfusion. Tout échantillon positif peut révéler la présence d'anticorps et/ou de l'antigène ou être un faux-positif. Aussi, avons-nous procédé à la vérification, à l'aide du test Vironostika, du statut sérologique négatif des échantillons afin de nous assurer de leur caractère réellement séronégatif et de la validité des tests effectués au niveau des structures transfusionnelles pour ce qui concerne la présence d'anticorps. L'utilisation du test Murex HIV Mab en seconde intention a permis de déterminer une cause probable de la réactivité vis-à-vis du test Enzymun.

Le travail s'est déroulé suivant les étapes ci-après :

- Première phase : réalisation des aliquots des différents sérums prélevés, lesquels aliquots ont été conservés à -20°C ;

- Deuxième phase : test de ces sérums pour la recherche combinée de l'Ag p24 et des anticorps anti-VIH1/2 en utilisant le test Enzymun-Test® HIV Combi. Il s'agit d'un test de 4^e génération permettant de rechercher à la fois les anticorps anti-VIH1/2 et l'Ag p24. Le seuil de détection de l'Ag p24 pour cette technique est de 10 pg/ml. Ce test présente, du fait qu'il permet à la fois le dépistage d'antigène et d'anticorps, une sensibilité diagnostique supérieure à celle des trousses qui ne permettent de dépister que les anticorps. La détermination simultanée de l'antigène P24 VIH et d'anticorps anti-VIH permet un dépistage plus précoce d'une infection par le virus VIH que la seule détermination d'anticorps anti-VIH. Sa spécificité est de 99,61 %.

- Troisième phase : tous les échantillons positifs avec le premier test (Enzymun-Test® HIV Combi) ont été retestés pour la recherche d'anticorps anti-VIH1/2 à l'aide du test Vironostika® Uni-form II plus O qui est le test de référence utilisé par les services de transfusion au Bénin pour le dépistage systématique du VIH dans les dons de sang. Cette étape nous permet de nous assurer de la fiabilité des tests ELISA pratiqués au niveau des services de transfusion et de confirmer l'effectivité du caractère séronégatif pour la recherche des anticorps anti-VIH 1/2 des échantillons retenus. Sa spécificité est de 99,92 %.

- Quatrième phase : les échantillons positifs ont été testés avec le test Murex HIV Antigen Mab, qui est un test immunoenzymatique, spécifique pour la détection et la quantification de l'antigène p24 du VIH dans le sérum, le plasma ou les surnageants de cultures cellulaires. Le seuil de détection de l'Ag p24 est de 5 pg/ml avec une spécificité de 99,88 %.

- Cinquième phase : pour les donneurs ayant présenté une réactivité et revenus pour un don ultérieur durant la période d'étude, la recherche systématique d'anticorps anti-VIH à l'ELISA a permis d'obtenir une confirmation de leur statut sérologique.

Analyse des données : Les données ont été saisies et analysées sur le logiciel Epi.info 6.0 c fr.

Résultats

Caractéristiques de la population étudiée
 Parmi les 821 donneurs de sang de la population testée, 389 (47,4 %) provenaient du service national de transfusion sanguine, 220 (26,8 %) du service départemental de l'Ouémé et 212 (25,8 %) de celui du Zou.

Six cent soixante-quinze d'entre eux étaient de sexe masculin, soit une proportion de 82,2 % et 146 (17,8 %) étaient de sexe féminin. La sex-ratio est de 4 hommes pour 1 femme.

L'ensemble des donneurs étaient âgés de 18 à 56 ans. L'âge moyen était de 25,5 ± 7,8 ans.

67,5 % d'entre eux ont eu à réaliser au moins un don de sang par le passé.

Sérologie

26 échantillons sur 821 ont réagi au test Enzymun-Test® HIV Combi, soit 3,2 % (tableau I).

Tableau I.

Prévalence d'antigènes et/ou d'anticorps en fonction du premier test (Enzymun-Test® HIV Combi).
 Prevalence of antigens and/or antibodies prevalence according to first test (Enzymun-Test HIV Combi).

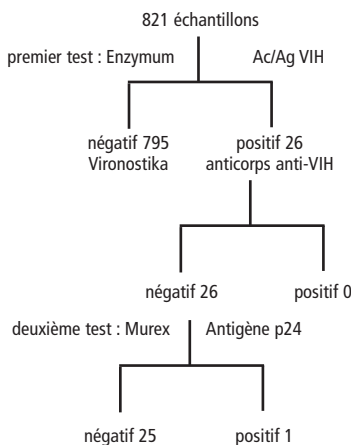
échantillons Enzymun-Test® HIV Combi	effectif	
	nb	%
+	26	3,2
-	795	96,8
total	821	100

Tous les échantillons détectés positifs avec le test Enzymun-Test® HIV Combi se sont révélés négatifs pour la recherche d'anticorps anti-VIH (Vironostika® Uni-form II plus O). Sur les 26 échantillons détectés positifs par le combi-test, un seul s'est révélé positif au second test Murex HIV Antigen Mab.

La méthodologie suivie et les résultats obtenus sont résumés par la figure 1.

Figure 1

Représentation schématique des tests sérologiques selon la méthodologie suivie et les résultats.
 Schematic representation of the serological tests according to methodology and results.



Suivi des donneurs testés

Au 01/07/2000, 9 donneurs sur les 25 positifs (36 %) au test Enzymun-Test® HIV Combi sont revenus pour un nouveau don. Soulignons le caractère fortement occasionnel des dons de sang au Bénin.

Tous les 9 donneurs ont été testés négatifs pour la recherche d'anticorps anti-VIH à l'ELISA (Test Vironostika®). (tableau II).

Tableau II.

Statut sérologique VIH des sujets positifs au test Enzymun et revus lors d'un don ultérieur.

HIV serological status of the subjects positive to Enzymun test and checked during a further donation.

donneurs sérologie	effectif	
	nb	%
+	0	0
-	9	100
total	9	100

Le dépistage génomique n'a pu être réalisé pour des raisons techniques, ce qui aurait permis d'expliquer les discordances observées entre les tests : celles-ci peuvent relever de plusieurs facteurs (performances des tests, erreurs humaines, erreurs de manipulations, faux-positifs, etc.) et le caractère occasionnel et irrégulier des dons de sang explique que la grande majorité des donneurs ayant présenté une réactivité au test Enzymun ait été perdue de vue.

Discussion

Cette étude rappelle une fois de plus la part non négligeable de la voie sanguine dans la transmission du VIH sur le continent africain (8) et ceci en dépit des mesures déployées pour sa prévention : elle repose le problème des risques transfusionnels malgré une pratique correcte des techniques ELISA.

Au Bénin, où il se réalise plus de 30 000 transfusions par an, le problème du risque transfusionnel se pose donc, ainsi que celui des moyens à utiliser pour sa réduction. Au SNTS, 0,5 % des donneurs réguliers ont présenté une séroconversion en 1998 (18).

Les résultats obtenus révèlent un risque transfusionnel élevé, à l'instar de celui enregistré dans les pays en voie de développement (5, 7, 8, 9, 16, 17, 19).

Les discordances de résultats entre les tests Enzymun et Vironostika peuvent s'expliquer par les performances des tests combinés détectant l'antigène p24 et les anticorps anti-VIH 1/2 comparés aux tests classiques détectant les anticorps anti-VIH 1/2. Les premiers, en réduisant la fenêtre sérologique, permettent une détection plus précoce des dons infectés assurant ainsi, de par leur éviction, une meilleure sécurité transfusionnelle (11).

Compte tenu de la cinétique des marqueurs sérologiques du VIH (l'antigène p24 apparaît entre 13 et 15 jours, les anticorps détectés par ELISA au bout de trois semaines environ), la détection de l'antigène p24, antigène d'apparition précoce et détectable bien avant les anticorps, fut envisagée avec grand espoir pour dépister et éliminer les donneurs en période de séroconversion. Cependant, devant les résultats divergents retrouvés par les différentes études menées dans ce but, la systématisation du dépistage de l'antigénémie sur les dons de sang demeure l'objet de polémique (2, 4, 5, 7-12, 15-19).

En effet, cette systématisation a pour corollaire : un surcroît de coût, un impact négligeable sur la sécurité transfusionnelle (très faible pourcentage de contamination par des transfusions de sang Ag+/Ac-), le rejet d'un nombre non négligeable de dons en rapport avec des résultats faussement positifs (performances des tests, erreurs humaines, erreurs de manipulations), l'augmentation du nombre de tests à effectuer sur

les dons de sang concourant à une augmentation du risque d'erreurs, l'effet d'attraction sur des personnes à risque ou ayant des comportements à risque. Il existe aussi la possibilité de contamination en rapport avec des dons de sang testés aussi bien négatifs pour la recherche d'anticorps que d'antigènes du VIH (6). Ceci pourrait s'expliquer, outre les performances des tests, par le fait que les antigènes p24 n'apparaissent et ne sont détectables que de façon transitoire au début de l'infection par le VIH.

Au regard de tout ce qui précède, il ne semble pas recommandable, dans les conditions actuelles, d'instaurer le dépistage en routine de l'antigénémie sur les dons de sang. Toutefois, nous mettons l'accent sur l'avantage de l'utilisation des tests combinés de 4^e génération pour le dépistage en routine du VIH 1/2 comparés aux tests classiques anticorps de 3^e génération pour une détection plus précoce des dons infectés par le VIH, assurant ainsi une meilleure sécurité transfusionnelle (11)

La réduction du risque infectieux résiduel et, d'une manière générale, le risque de transmission du VIH par voie sanguine passe par deux éléments clés que sont la sélection des donneurs et l'interrogatoire médical pré-don systématique.

La sélection des donneurs, l'interview à la recherche de facteurs de risque (toxicomanie, vagabondage sexuel, etc.) et les programmes de fidélisation des donneurs constituent des mesures pratiques ayant fait la preuve de leur efficacité dans la réduction de la prévalence et de l'incidence de l'infection par le VIH au sein des populations de donneurs. Ce faisant, elles contribuent à diminuer le risque résiduel comme le soulignent bon nombre de travaux (8, 3, 21).

L'instauration, le développement et l'amélioration des stratégies rentrant dans ce cadre sont à promouvoir pour une efficacité encore plus grande.

En Afrique subsaharienne, il convient de mettre l'accent sur d'autres moyens qui doivent être effectifs pour obtenir une réduction significative de ce risque : la généralisation du dépistage systématique de l'infection par le VIH ; l'instauration d'un programme de contrôle de qualité prenant en charge la surveillance de toutes les activités en rapport avec la transfusion sanguine ; la définition des indicateurs précis de transfusion afin de réduire les transfusions non nécessaires (autotransfusion, macromolécules, PFC) ; la prévention dans le cadre des programmes de santé publique des pathologies génératrices d'anémie (parasitoses intestinales, carences alimentaires, paludisme, etc.) surtout chez les enfants et les femmes enceintes ; la formation initiale et continue du personnel.

Les procédures d'inactivation des agents transmissibles en général, viraux en particulier (pasteurisation, solvant-détergent, etc.) ; de sécurisation (cryopréservation) et le dépistage génomique en routine (14) sont également de nature à mieux définir et à réduire ce risque mais ils constituent des technologies de pointe pour encore longtemps inaccessibles à nos pays sous-développés.

Conclusion

Cette étude confirme l'existence d'un risque infectieux résiduel de transmission de l'infection par le VIH par la transfusion sanguine, malgré une pratique correcte des techniques ELISA, justifiant les efforts à entreprendre ou à poursuivre à divers niveaux pour sa réduction et une amélioration significative de la sécurité transfusionnelle.

Références bibliographiques

- ADJOVI C - *Surveillance épidémiologique de l'infection par le VIH/SIDA/MST en République du Bénin*. Rapport année 1999, PNLIS, Cotonou, 1999, 15 p.
- ALTER HJ, EPSTEIN JS, SWENSON SG, VANRADEN MJ, WARD JW et al. - Prevalence of human immunodeficiency virus type 1 p24 antigen in US blood donors: an assessment of the efficacy of testing in donor screening. *N Engl J Med*, 1990, **323**, 1312-1317.
- BUSCH MP - Transfusion and HIV. *Hematology*, 1994, **1**, 438-442.
- BUSCH MP, TAYLOR PE, LENES BA, KLEWMAN SH, STUART M et al. - Screening of selected male blood donors for p24 antigen of human immunodeficiency virus type 1. *N Engl J Med*, 1990, **323**, 1308-1312.
- CHOHAN B, MUSEY L, MARTIN H, BWAYO J, NDINYA-ACHOLA JA et al. - *Evaluation of HIV-1 p24 antigen assay for the detection of acute HIV-1 infection among african patients*. Abstract A.114, Xth International Conference on AIDS and STD in Africa, Abidjan, 1997.
- CHUANUMRIT A, VARAVITHYA W, ISARANGKURA P, SIRINAVIN S, CHIEWSILP P et al. - Transfusion-transmitted AIDS with blood negative for anti-HIV and HIV- antigen. *Vox sang*, 1996, **71**, 64-65.
- EKRA D, NOUF M, NERRIENET E, KONATE S, BONDURAND A et al. - *Evaluation de l'efficacité de l'Ag p24 pour diminuer le risque post transfusionnel lié au VIH à Abidjan, Mai 1997*. Abstract 15PT511-2, XI^e Conférence Internationale sur le SIDA et les MST en Afrique, Lusaka, 1999.
- FARLAND W, MVERE D, SHANDERA W & REINGOLD A - Epidemiology and prevention of transfusion-associated human immunodeficiency virus transmission in sub-saharan Africa. *Vox sang*, 1997, **72**, 85-92.
- HEYNS A, KUNN E, BRASHAW M & FIELD S - *South African Blood Transfusion Service (SABTS). A one year experience of screening with p24 antigen*. Abstract 1129, 25th Congress of the International Society of Blood Transfusion, Oslo, 1998.
- IRANI MS, DUDLEY AW Jr & LUCCO LJ - Case of HIV-1 Transmission by antigen-positive, antibody-negative blood. *N Engl J Med*, 1991, **325**, 1174-1175.
- LAPERCHE S, MANIEZ-MONTREUIL M & COUROUCE AM - Evaluation comparative des tests de dépistage combiné de l'Ag P24 et des AC anti VIH. In : GHANASSIA JC & HARZIC M (Eds) - XIII^e colloque de virologie de Versailles - le Chesnay. Elsevier, Paris, 2001, pp. 49-58.
- Le PONT F, COSTAGLIOLA D, ROUZIOUX C & VALLERON AJ - How much would the safety of blood transfusion be improved by including p24 antigen in the battery of tests? *Transfusion*, 1995, **35**, 542-547.
- ONUSIDA - *Le point sur l'épidémie de SIDA*. OMS, Genève, 1999, pp. 3-9.
- RIEUX C - Médecine transfusionnelle. *Hématologie*, 2000, n^o spécial, **6**, 26-28.
- SAINTE MARTIN J - Recherche de l'antigénémie virale VIH 1 : son intérêt, ses limites. *Laborama*, 1989, **29**, 16-18.
- SAVARIT D, COCK KM, SCHUTZ R, SCHUTZ R, KONATE S et al. - Risk of HIV infection from transfusion with blood negative for HIV antibody in a West African city. *BMJ*, 1992, **305**, 498-501.
- SITAS F, FLEMING AF & MORRIS J - Residual risk of transmission of HIV through blood transfusion in South Africa. *S Afr Med J*, 1994, **84**, 142-144.
- SNTS - *Rapport d'activité 1998*, MSP, Cotonou 1998, 13 p.
- TONGO M, ZEKENG L, NDONGMO C, GÜRTLER L & KAPTUE L - *Evaluation of residual risk of HIV infection associated with transfusion of seronegative blood donors in Yaounde, Cameroon*. Abstract A.255, Xth International Conference on AIDS and STD in Africa, Abidjan, 1997.
- TOSSA R - *Evaluation de la prévention de la transmission du VIH au cours des transfusions sanguines en République du Bénin*. Thèse méd, Cotonou, 1998, 111 p.
- WAUTIER J-L - Transfusion de sang et de produits dérivés du sang : Mesures de sécurité, risques et accidents circulatoires, immunologiques et infectieux. *Rev Prat*, 1999, **49**, 409-413.