



## **AVIS DU CONSEIL SUPERIEUR DE LA SANTE N° 8751**

### **Raccourcissement des périodes d'ajournement au don de sang consécutif à la réduction des pathogènes dans les concentrés plaquettaires contre les virus West Nile et Chikungunya**

*Inquiry on shortening the deferral periods for blood donation following the implementation of pathogen reduction technology on platelet concentrates: chikungunya and West Nile virus*

Version validée par le Collège de septembre 2015<sup>1</sup>

#### **INTRODUCTION ET QUESTION**

En date du 8 octobre 2010, le Conseil Supérieur de la Santé (CSS) a reçu une demande d'avis de monsieur l'administrateur général de l'Agence fédérale des Médicaments et Produits de Santé<sup>2</sup> concernant l'opportunité de raccourcir les périodes d'ajournement au don de sang à la suite de la réduction des pathogènes dans les concentrés plaquettaires contre les virus West Nile et Chikungunya.

Le CSS avait déjà été saisi d'une demande d'avis sur l'utilité des techniques de réduction des pathogènes (PRT; *Pathogen Reduction Technology*) afin d'inactiver divers pathogènes dans le plasma frais congelé ou dans les concentrés plaquettaires. Lors de ces évaluations, le CSS avait constaté qu'il existait un certain nombre de données (cf. Caridian, 2010; Cerus, 2010) permettant d'attester de l'efficacité de ces techniques pour diminuer les risques de contamination par les virus West Nile (WNV) et Chikungunya (CHIKV) dans le plasma et les plaquettes. En Belgique, les concentrés plaquettaires sont soumis aux procédés de réduction des pathogènes lors de leur préparation. Les méthodes de réduction des pathogènes pourraient s'avérer à ce point efficaces contre ces virus qu'une période d'exclusion au don de sang ne serait pas nécessaire ou pourrait être réduite.

Actuellement, en Belgique, tout voyageur au retour d'un séjour hors de l'Union européenne et d'un certain nombre de pays voisins (notamment du pourtour méditerranéen) est exclu du don de sang pendant 28 jours (CSS, 2007). De même, une période d'exclusion de plusieurs semaines s'applique après un séjour dans des pays européens ou voisins lorsqu'il existe un risque de contamination par les virus WNV ou CHIKV (ECDC, 2007; ECDC, 2010; Gould et al., 2010). En Belgique, les périodes appliquées ont été de 21 jours pour l'épidémie de Chikungunya en 2007

<sup>1</sup> Le Conseil se réserve le droit de pouvoir apporter, à tout moment, des corrections typographiques mineures à ce document. Par contre, les corrections de sens sont d'office reprises dans un erratum et donnent lieu à une nouvelle version de l'avis.

<sup>2</sup> Courrier de M. X. De Cuyper, Administrateur général de l'Agence fédérale des Médicaments et Produits de Santé (sous réf. FAGG/LM/112626), du 06/10/10, adressé à M. J. Neve, Président du CSS.

en Italie du Nord ou de 28 jours lors de l'épidémie de la fièvre West Nile en Grèce, Hongrie, Roumanie et Italie du Nord depuis 2010 (CSS, 2007; AFMPS, 2010). Le nombre de voyageurs symptomatiques, dépistés en Belgique après leur retour d'une zone touchée, évolue parallèlement à la chronologie des foyers décrits dans la littérature (Van den Bossche et al., 2015; Fig. 5).

Récemment, la directive européenne 2014/110/UE a stipulé qu'une exclusion temporaire n'est pas nécessaire pour le WNV si un test d'amplification des acides nucléiques a été effectué sur le don et que le résultat est négatif. Cette directive vient d'être transposée en législation belge (Arrêté Royal du 2 juillet 2015). Aucun dépistage génomique (NAT) des virus WNV ou CHIKV n'est actuellement effectué sur les dons de sang prélevés en Belgique. Une analyse précise de l'impact financier doit encore être conduite. Selon EDQM (2013), lorsqu'un test n'est pas disponible, les voyageurs présentant une maladie clinique de WNV peuvent être acceptés pour le don de sang 120 jours après la disparition des symptômes. En Europe, les périodes d'ajournement pour le WNV ne sont pas applicables lorsque le sang est exclusivement utilisé pour le plasma destiné au fractionnement.

## AVIS

Les méthodes de réduction des pathogènes permettent d'apporter une sécurisation additionnelle aux concentrés plaquettaires en fonction de la souche de virus.

Aux fins d'un raccourcissement des périodes d'ajournement au don de sang et suite à l'évaluation de l'ensemble des données disponibles, le CSS préconise une élimination complète de la charge infectieuse avec une marge de sécurité de 3 log supplémentaire. Deux périodes sont délimitées pendant la virémie post-infection WNV et CHIKV: en effet, la charge virale augmente brusquement peu après l'infection (phase de virémie) pour ensuite chuter rapidement à des niveaux indétectables dans le plasma par dépistage génomique. Cette diminution va de pair avec l'augmentation des anticorps neutralisants.

S'il a été démontré qu'aucun virus infectieux ne persiste à la fin de la durée d'entreposage des plaquettes, la période d'ajournement au don de sang peut être raccourcie selon l'efficacité des méthodes et les limitations suivantes:

- a) Quand d'autres composants sanguins sont prélevés lors de la préparation de concentrés plaquettaires, le CSS avertit que les périodes d'exclusion doivent être raccourcies en fonction du taux de réduction le plus contraignant;
- b) Les méthodes PRT doivent en outre réduire efficacement un éventuel autre pathogène pour lequel une période d'exclusion est mise en place et qui peut être présent chez le donneur par coïnfection;
- c) Quand une capacité de réduction d'au moins  $3,7 \log_{10}$  de la charge infectieuse<sup>Δ</sup> peut être validée, la période d'exclusion peut être raccourcie jusqu'après la phase de virémie, c.-à-d. à 11 jours pour les souches de WNV et à 20 jours pour celles de CHIKV;
- d) Une période d'exclusion n'est plus nécessaire pour une efficacité d'au moins  $6,5 \log_{10}$  de la charge infectieuse<sup>Δ</sup> pour les souches de WNV et d'au moins  $10,7 \log_{10}$  pour celles de CHIKV.

<sup>Δ</sup> exprimée en TCID<sub>50</sub>/mL de plasma en tenant compte d'une marge de sécurité de 3 log

## Mots clés et termes MeSH<sup>3</sup>

MeSH	Keywords	Sleutelwoorden	Mots clés	Schlüsselwörter
West Nile virus	West Nile virus, WNV	West-Nijlvirus, WNV	Virus du Nil occidental, WNV	West Nile-Virus, WNV
Chikungunya virus	Chikungunya virus, CHIKV	Chikungunya virus, CHIKV	Virus Chikungunya, CHIKV	Chikungunya-Virus, CHIKV
safety	pathogen reduction, PRT	pathogeenreductie, PRT	réduction des pathogènes, PRT	Pathogenreduktion, PRT
platelets	platelets	bloedplaatjes	plaquettes sanguines	Thrombozyten
blood donation	blood donation	bloedgeven	don de sang	Blutspende
–	deferral period	uitsluitingsperiode	période d'exclusion	Ausschlussperiode

MeSH (Medical Subject Headings) is the controlled vocabulary thesaurus used for indexing articles for PubMed <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh>

## METHODOLOGIE

Après analyse de la demande, la présidente du domaine « Sang et dérivés sanguins » et le groupe de travail ont identifié les expertises nécessaires. Sur cette base, les compétences en transfusion sanguine et biologie cellulaire du groupe de travail ont été complétées par des compétences en virologie. Les experts de ce groupe ont rempli une déclaration générale et *ad hoc* d'intérêts et la Commission de Déontologie a évalué le risque potentiel de conflits d'intérêts.

L'avis est basé sur une revue à la fois de la littérature scientifique et des rapports d'organisations internationales compétentes en la matière, ainsi que sur l'opinion des experts.

Après approbation de l'avis par le groupe de travail, le Collège a validé l'avis en dernier ressort.

## ELABORATION ET ARGUMENTATION

Abréviations utilisées: ARN = acide ribonucléique; CHIKV = *Chikungunya virus*; gEq = *genome equivalents*; IgG = immunoglobulines G; IgM = immunoglobulines M; log<sub>10</sub> = logarithme en base 10; NAT = *nucleic acid testing*; PCR = *polymerase chain reaction*; PFU = *plaque forming units*; PRT = *pathogen reduction technology*; RT-PCR = *reverse transcription polymerase chain reaction*; TCID<sub>50</sub> = 50 % *median tissue culture infectivity dose*; WNV = *West Nile virus*.

### 1. L'opportunité de la réduction des pathogènes

Le terme de technique de *réduction de pathogènes* a été retenu pour la suite de l'argumentation plutôt que technique d'*inactivation de pathogènes* puisqu'il n'implique pas nécessairement une inactivation complète mais bien une réduction de la contamination d'un composant sanguin.

En 2008, le CSS avait conclu notamment (CSS, 2008) que « *les méthodes de réduction des pathogènes validées et sûres pour les concentrés plaquettaires constituent des techniques*

<sup>3</sup> Le Conseil tient à préciser que les termes MeSH et mots-clés sont utilisés à des fins de référencement et de définition aisés du scope de l'avis.

*efficaces qui offrent le bénéfice de pouvoir réduire les risques de transmission des agents infectieux, tels que les virus enveloppés, les bactéries (Gram positives et Gram négatives) et les protozoaires, mais pas les prions ».*

L'utilité des méthodes PRT dépendra de paramètres affectant les receveurs, comme par exemple la gravité de la maladie clinique post-transfusionnelle (p.ex. Pealer et al., 2002 pour le WNV) et la charge minimale considérée comme infectante (Goodrich et al., 2010; Petersen & Busch, 2010). Dans ce contexte, il ne faut pas perdre de vue que les patients qui reçoivent des plaquettes sont généralement sensibles aux infections: environ 70 % d'entre eux sont immunodéprimés et par conséquent davantage concernés. Malgré ce contexte aucune maladie clinique post-transfusionnelle (grave) n'a jusqu'à présent été authentifiée après transmission du CHIKV (Petersen & Epstein, 2014).

La charge infectante minimale après transfusion d'un composant sanguin n'est souvent pas connue exactement. Une étude récente sur la souche virale du WNV circulant en Amérique du Nord (Kelly et al., 2013) montre cependant qu'elle peut se situer en-dessous du seuil de détection par amplification génomique (NAT) individuelle. Dans ces circonstances, une réduction appropriée des pathogènes requerra l'inactivation de telles concentrations résiduelles dans les composants sanguins.

Pour raccourcir, voire supprimer, d'éventuelles périodes d'exclusion imposées lors de la survenue d'épidémies de WNV ou CHIKV, il importe ensuite de tenir compte de la charge (maximale) de virus qu'un traitement PRT donné pourrait réduire. En l'absence de dépistage spécifique pour un pathogène, l'opportunité d'une PRT augmente effectivement avec la proportion de donneurs infectés asymptomatiques et avec la durée de la virémie (maximale) chez ces donneurs (voir Figure 1).

Par contre, la pertinence d'une PRT pour écourter les périodes d'ajournement ayant trait à un virus particulier est clairement restreinte quand une réduction équivalente ne peut être obtenue pour l'un des autres composants prélevés chez le même donneur. A noter qu'à ce jour il n'existe aucune méthode PRT validée pour les concentrés érythrocytaires.

Cette pertinence peut être également limitée quand la méthode ne permet pas de réduire efficacement un autre pathogène présent chez le donneur par coïnfection (p.ex. Myers & Carey, 1967; Gould et al., 2008; Caron et al., 2012; Baba et al., 2013; Reusken et al., 2013).

L'opportunité de raccourcir les périodes d'ajournement au don de sang à la suite de la réduction des pathogènes dans les concentrés plaquettaires contre les virus WNV et CHIKV dépend à la fois de paramètres inhérents à un virus particulier et à la capacité de réduction des méthodes. L'évaluation devra tenir compte de la charge de virus qu'un traitement PRT donné pourrait réduire mais aussi de la durée de la virémie (maximale) chez ces donneurs, de la proportion de donneurs infectés asymptomatiques, de la charge infectante minimale, de la gravité de la maladie clinique post-transfusionnelle, de la possibilité d'obtenir une réduction équivalente pour l'un des autres composants prélevés chez le même donneur ou pour un autre pathogène présent chez le donneur par coïnfection.

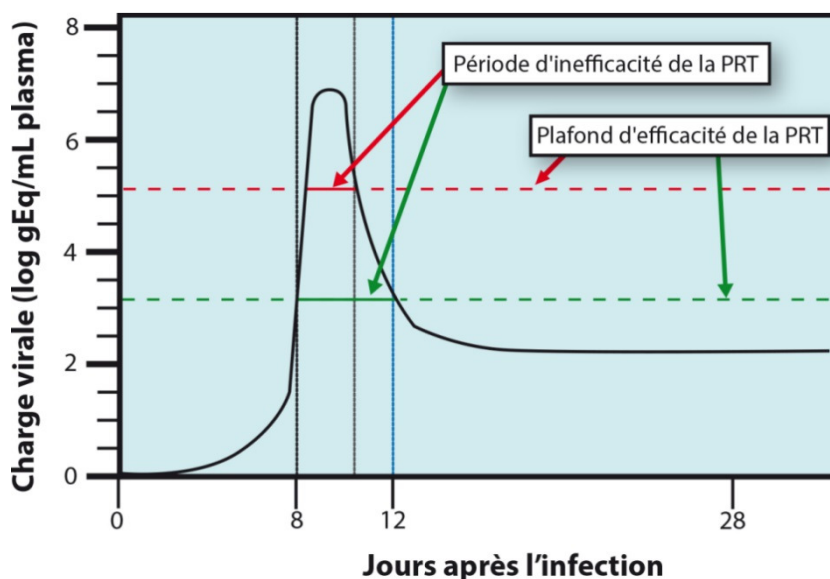
## 2. La capacité de réduction des pathogènes et la charge virale

Apporter la preuve de l'efficacité à prévenir la transmission d'une maladie peut ne pas être possible dans un cadre clinique en raison du nombre très élevé de données nécessaires à ce type d'étude. C'est pourquoi, l'efficacité de la PRT a été mesurée par le biais de la réduction logarithmique de la contamination des composants sanguins (Epstein & Vostal, 2003). Ceci est jugé approprié pour les virus présents dans le plasma car les particules virales qui n'ont pas été inactivées ne possèdent pas la capacité de se multiplier après le traitement.

La capacité de réduction des pathogènes dépend du type de virus (enveloppé ou non) et de la méthode particulière mise en œuvre (voir Figure 1).

Pour de nombreuses techniques PRT mises au point pour traiter les plaquettes (p.ex. Irsch & Lin, 2011; Marschner & Goodrich, 2011; Seltsam & Müller, 2011), les taux de réduction sont généralement plus élevés pour les virus enveloppés que pour divers virus non-enveloppés (CSS, 2008). Etant donné que les virus WNV et CHIKV sont des virus enveloppés, leur sensibilité aux traitements est relativement bonne. La résistance aux traitements physicochimiques est aussi de niveau faible à moyen pour les virus enveloppés à ARN simple brin comme les virus WNV et le virus CHIKV (Farshid, 2002).

**Figure 1.** Comparaison de l'efficacité de deux méthodes PRT contre un virus hypothétique, l'une avec un taux de réduction de 3 log/mL, l'autre avec un taux de 5 log/mL (modifié d'après Goodrich et al., 2010). Le schéma montre l'évolution de la virémie chez une personne infectée et présente les plafonds d'efficacité et les périodes d'inefficacité en fonction de la charge virale.



L'efficacité des méthodes PRT varie aussi avec l'espèce virale, la souche<sup>4</sup> ou le génotype viral (Farshid, 2002; Shimasaki et al., 2009; Farcet et al., 2012) et selon la charge virale présente dans le composant à traiter (CSS, 2008).

<sup>4</sup> Pour une souche de virus donnée, les particules virales peuvent en outre se comporter différemment selon les cellules qui propagent les virions (Rey, 2013).

Toutefois, il existe une difficulté intrinsèque à déterminer un nombre absolu de copies génomiques virales, en particulier dans le contexte des méthodes de détection couvrant différentes plates-formes technologiques de dosage qui peuvent posséder différentes sensibilités analytiques (Añez et al., 2015). Les charges virales mesurées circonscrivent dès lors des moyennes d'unités détectables.

Quand la charge virale est exprimée en nombre de particules par volume, elle ne reflète cependant pas la quantité de virus réellement infectieux à cause de la présence de particules virales incapables de réplication (Odelola & Oduye, 1977). La relation entre le nombre d'équivalents de génomes détectables (gEq) et le taux de virus infectieux (TCID<sub>50</sub> ou PFU<sup>5</sup>) peut être estimée par l'analyse *real time* RT-PCR mais la concordance dépend des séquences d'ARN particulières utilisées dans ces expériences d'amplification en temps réel (Yap et al. 2010). Pour le CHIKV, la concordance du résultat d'une telle analyse *real time* RT-PCR avec une quantification basée sur la formation de plaques virales a été chiffrée à 92 % (Ho et al., 2010). Il convient de souligner que, le taux de virus déterminé par la méthode TCID<sub>50</sub> n'est pas équivalent au taux obtenu par la méthode PFU, même pour une souche virale et une lignée cellulaire identique. En vérité, les deux essais en laboratoire sont mis en place différemment et l'infectiosité du virus est très sensible à des facteurs comme l'âge des cellules, le milieu de culture cellulaire recouvrant, etc.

Etant donné que les protéines de l'enveloppe du WNV sont moins fortement ancrées sur la nucléocapside que chez le CHIKV, le WNV est plus fragile que le CHIKV et présente par conséquent un rapport gEq/TCID<sub>50</sub> plus élevé.

La sensibilité aux traitements PRT varie en fonction de l'espèce virale, de la souche ou du génotype viral. L'efficacité réductrice peut fluctuer avec l'évolution de la charge virale chez une personne infectée.

### 3. L'évolution de la virémie pour le virus West Nile

Le WNV appartient à la famille des *Flaviviridae* qui comprend également d'autres virus tels que les virus de la Dengue, la fièvre jaune, l'encéphalite japonaise. La transmission à l'homme se fait par des piqûres de moustiques. Initialement le WNV a été considéré comme inoffensif pour l'homme mais de plus en plus de lignées virales pathogènes ont été décrites au fil du temps (voir rubrique 6). Environ 80 % des personnes infectées ne montrent jamais de symptôme apparent mais une fièvre du Nil occidental peut se manifester dans environ 20 % des cas (Campbell et al., 2002; Petersen et al., 2010).

Dans une faible proportion de personnes infectées — environ 1 sur 150 — la maladie peut évoluer sévèrement, associée à des symptômes du système nerveux central (encéphalite), et même conduire au décès (Petersen et al., 2013). La fréquence des formes graves et un mauvais pronostic vital sont associés à l'âge (> 65 ans) et à l'état du système immunitaire du patient (Weiss et al., 2001; Jean et al., 2005). Les patients souffrant d'hypertension artérielle ou de diabète

<sup>5</sup> La quantification TCID<sub>50</sub> recense l'effet cytopathique dans 50 % des cellules inoculées par dilution successive du virus tandis que le titrage PFU dénombre les plaques virales formées dans une culture cellulaire.

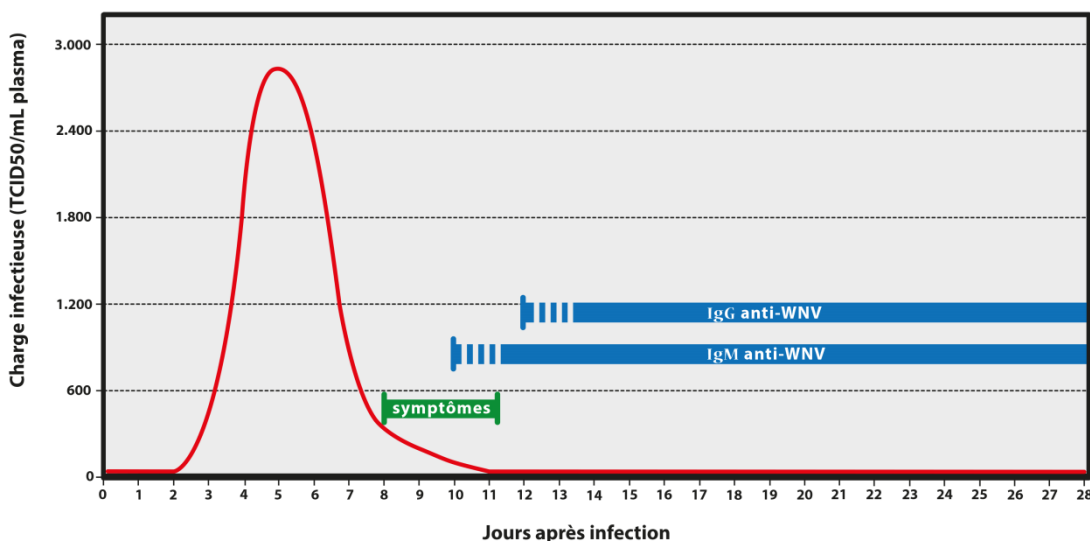
semblent aussi développer des symptômes plus graves (Samuel & Diamond, 2006). Selon une analyse multivariable (Lindsey et al., 2012), une maladie rénale chronique, des antécédents de cancer et des antécédents d'abus d'alcool étaient également associés avec une maladie grave, tandis que seule l'immunosuppression était associée à la mortalité.

Après une période d'incubation d'environ 2 jours après l'infection, la virémie WNV est élevée pendant en moyenne 8 jours (Fig. 2). Pour ce virus, les symptômes apparaissent typiquement après l'acmé de l'infection (Gea-Banaloché et al., 2004; Custer et al., 2009). Parfois les symptômes peuvent se maintenir jusqu'à 14 jours (Campbell, 2002) et la virémie peut s'étendre jusqu'à 11 jours après l'infection (Mostashari et al., 2001; Biggerstaff & Petersen, 2002).

Quand la virémie atteint son niveau le plus élevé pour le WNV, un taux de  $10^5$  à  $10^6$  particules virales/mL de plasma est observé (Stramer et al., 2005; Tobler et al., 2008; Goodrich et al., 2010; Petersen & Busch, 2010; Zou et al., 2010).

Lors d'infections intentionnelles de patients atteints de cancers avancés (Southam & Moore, 1954) l'accroissement de la charge virale était proportionnel à la charge initiale inoculée, néanmoins 89 % des patients ne montraient aucun symptôme en dehors d'une légère fièvre. Ordinairement, la charge virale élevée permet donc de prédire le développement de symptômes futurs (Southam & Moore, 1954), cependant la virémie WNV n'évolue pas toujours de manière concomitante avec la gravité des symptômes puisque des donneurs de sang restés asymptomatiques ont été décrits comme pouvant être porteurs de  $10^5$  particules virales/mL de plasma (Tobler et al., 2008). Zou et al. (2010) ont même montré que la charge virale maximale chez certains donneurs asymptomatiques peut dépasser celle des donneurs symptomatiques au moment du don. La période d'incubation après transmission par transfusion ou transplantation est 4 x plus longue que la période observée après piqûre de moustique (Rudolph et al., 2014).

**Figure 2.** Cinétique de la virémie post-infection pour une personne infectée de manière aiguë par le virus WNV (charge infectieuse maximale). Les anticorps neutralisants apparaissent graduellement (marqué en bleu haché).





Tout récemment, Dodd et al. (2015) ont mis en lumière la stratification des charges virales détectées chez 1.477 donneurs de sang confirmés positifs par WNV-NAT aux Etats-Unis entre 2003 et 2012. Le profil — représenté graphiquement en « boîte à moustaches » — montre une continuité des valeurs adjacentes supérieures vers la valeur extrême, allant de 28.750 à 720.000 gEq/mL plasma, c.-à-d.  $10^{5,86}$  particules virales/mL. Ces charges virales correspondent à 25 % de la répartition des taux d'ARN détectés chez ces donneurs asymptomatiques.

Pour le WNV, Pfeleiderer et al. (2008) ont estimé qu'une dose infectieuse de 1 TCID<sub>50</sub> concorde avec 340 gEq/mL.

La charge virale identifiée comme infectante lors d'une transmission par transfusion est faible (Lanciotti et al., 2000) et une contamination a déjà été observée lors de manipulations de faibles quantités de sang infecté au laboratoire (CDC, 2002). Cependant, la charge infectante minimale n'était pas connue pour les patients affaiblis ou immunodéprimés (Busch et al., 2008; Petersen & Busch, 2010). Par ailleurs, le risque transfusionnel avait été considéré comme faible après la phase de virémie et ceci a été mis en corrélation avec la présence concomitante d'IgM et d'IgG (Busch et al., 2008) ou de cellules T régulatrices (Lanteri et al., 2009). Cependant, Macedo et al. (2004) et Rios et al. (2008) considèrent que les composants sanguins restent infectieux en présence d'un faible niveau d'ARN viral et d'anticorps anti-WNV. Effectivement, Kelly et al. (2013) viennent de décrire un cas mortel associé à une transfusion de plaquettes recueillies à partir d'un donneur de sang infecté asymptomatique, malgré la détection d'IgM spécifiques au WNV et d'anticorps neutralisants. Le don de sang était non réactif au dépistage NAT individuel.

Des études sur le cloisonnement du WNV dans le sang (Rios et al., 2007; Lai et al., 2012; Lanteri et al., 2014) ont révélé que ce virus adhère sur les érythrocytes et que la charge virale pouvait être 10 à 25 fois plus élevée dans le sang total par rapport à celle du plasma. De surcroît, l'ARN viral persiste dans le sang total pendant 3 mois (Lanteri et al., 2014). Cela ne signifie pas nécessairement que le virus présent est infectieux; cependant, le WNV a également été transmis par des organes prélevés sur un donneur ayant des titres élevés d'anticorps anti-WNV et sans virus détectable dans le plasma (Nett et al., 2012).

Le WNV entretient dans la nature un cycle d'infection oiseau-moustique-oiseau. Bien qu'il est capable de se répliquer à des températures élevées, comme chez les oiseaux fiévreux (Andrade et al., 2011), le WNV ne maintient pas de cycle d'infection homme-moustique-homme. Les résultats de Bai et al. (2010) indiquent par ailleurs que les cellules neutrophiles polymorphonucléaires servent de réservoir au WNV en début d'infection, ce qui entrave leur rôle putatif de protection et peut conduire à une transmission par transfusion sanguine.

Pour le WNV, la cinétique de la virémie post-infection passe par une phase aiguë qui peut s'étendre jusqu'à 11 jours après l'infection. Les symptômes apparaissent typiquement après la phase de virémie. Environ 80 % des personnes infectées ne montrent jamais de symptôme apparent.

Le **niveau le plus élevé de la charge infectieuse** se situe vers 2.940 TCID<sub>50</sub>/mL de plasma (c.-à-d. **3,47 log<sub>10</sub>**).

La charge virale minimale considérée comme infectante lors d'une transfusion de plaquettes peut se situer en-dessous du seuil de détection par amplification génomique (NAT) individuelle.



#### 4. L'évolution de la virémie pour le virus Chikungunya

Le CHIKV appartient à la famille des *Togaviridae* qui comprend d'autres virus tels que les virus Semliki Forest, Sindbis et Ross River. La transmission à l'homme se fait typiquement par des piqûres de moustiques tropicaux. Chez l'homme, trois lignées virales pathogènes ont été décrites (voir rubrique 6). Il est communément admis qu'une infection cause une fièvre élevée accompagnée de douleurs articulaires symétriques sévères et débilitantes ainsi que des douleurs musculaires chez près de 80 % des personnes infectées (Sergon et al., 2007). Ultérieurement à une amélioration de courte durée après la phase aiguë, les symptômes peuvent durer des semaines ou des mois et jusqu'à 66,5 % des patients signalent une rigidité et/ou de la douleur musculaire plus d'un an après le début de l'infection (Borgherini et al., 2008; Moro et al., 2012). Simon et al. (2015) ont estimé que 5 % de ces patients sont atteints de rhumatismes inflammatoires chroniques.

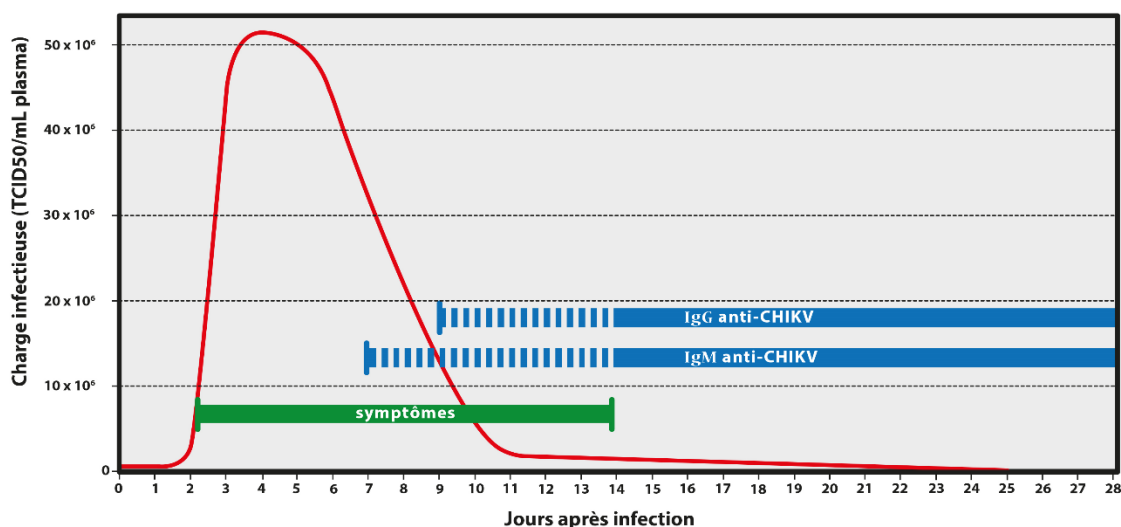
Selon Staikowski et al. (2012), les personnes âgées de moins de 65 ans montrent une évolution bénigne, car aucune des personnes infectées pendant l'épidémie à La Réunion ayant moins de 65 ans n'avait dû être hospitalisée. En revanche, Yoon et al. (2015) rapportent que le nombre de personnes infectées asymptomatiques augmente avec l'âge pour passer d'environ 30 % chez les enfants à 90 % chez les donneurs infectés âgés de plus de 50 ans. Leur étude reflète probablement le degré d'immunité résultant d'expositions antérieures qui ont eu lieu aux Philippines. Les complications graves, longtemps considérées comme rares, comprennent la myocardite, la méningite, l'encéphalite et la paralysie flasque aiguë. La mortalité associée est rare et touche principalement les personnes âgées ayant des pathologies sous-jacentes ou d'autres coïnfections. La transmission materno-néonatale est fréquente uniquement en fin de grossesse, au voisinage du terme, avec des conséquences graves pour le fœtus (Ramful et al., 2007; Gérardin et al., 2008).

Après une période d'incubation d'environ 2 jours, la virémie CHIKV augmente de manière extrêmement rapide et chute ordinairement brusquement vers le 6<sup>e</sup> jour mais elle peut rester élevée pendant 8 jours (Appassakij et al., 2013; Fig. 3). Appassakij et al. (2013) et Chusri et al. (2014) ont confirmé que la charge infectieuse décroît rapidement dès l'apparition d'anticorps IgM anti-CHIKV, quoique l'ARN viral pouvait rester détectable jusqu'à 17 jours après le début de l'infection. Cependant, l'incubation s'étend parfois jusqu'à 2 semaines (Robinson, 1955; Beltrame et al., 2007) et dans ce cas la virémie peut rester élevée jusqu'à 20 jours après l'infection.

Pour ce virus, la durée de la virémie présymptomatique est encore mal connue. Habituellement, les symptômes apparaissent rapidement après l'infection — parfois un jour plus tard (Simon et al., 2007; Gallian et al., 2014) et il a été estimé qu'environ 4 à 25 % les personnes infectées ne montrent aucun symptôme apparent durant le début de l'infection (Josseran et al., 2006; Ng et al., 2009).

Quand la virémie atteint son niveau le plus élevé, le CHIKV peut présenter une charge virale particulièrement élevée allant jusqu'au-delà de  $10^{10}$  particules virales/mL de plasma (Panning et al., 2008; Hoarau et al., 2010; Petersen et al., 2010; Win et al., 2010). Par l'intermédiaire d'une calibration par rapport à un ARN synthétique de référence, Lanciotti et al. (2007), Santhosh et al. (2007) et Appassakij et al. (2013) ont évalué la charge infectieuse maximale à  $10^{6,8}$ ,  $10^7$  ou  $10^{8,5}$  PFU/mL de plasma respectivement.

**Figure 3.** Cinétique de la virémie post-infection pour une personne infectée de manière aiguë par le virus CHIKV (charge infectieuse maximale). Les anticorps neutralisants apparaissent graduellement (marqué en bleu haché).



Peu de données sont à ce jour disponibles au sujet de la charge virale chez les donneurs de sang asymptomatiques infectés. Pendant la grande épidémie qui a sévi sur l'île de La Réunion, l'implémentation d'une technique de PRT a été une mesure systématique supplémentaire à un dépistage du virus et à une exclusion très complète des donneurs (Angelini et al., 2006; Cazenave et al., 2006). Cazenave et al. (2006) font état d'un seul don faiblement positif parmi 521 concentrés de plaquettes d'aphérèse testés. Ces concentrés font partie d'une étude plus large (Rasonglès et al., 2009) portant sur 1.950 dons de plaquettes; toutefois, les résultats du dépistage génomique n'ont pas été divulgués<sup>6</sup>. Appassakij et al. (2013) et Gallian et al. (2014) signalent quelques donneurs de sang asymptomatiques chez lesquels la charge atteignait des valeurs supérieures à  $10^8$  gEq/mL de plasma au moment du don. Les premiers résultats sur l'épidémie du CHIKV au Puerto Rico viennent d'être rendus publics (Busch, 2015): ils indiquent pour la première fois qu'en réalité seulement 4 % des cas infectés sont notifiés puisque chez 23,4 % des donneurs de sang des anticorps étaient apparus sans qu'il y ait survenue de symptômes manifestes. Chez environ 10 % de ces donneurs les charges virales dépassent  $10^5$  gEq/mL. Chiu et al. (2015) ont remarqué une charge de  $10^{7,96}$  gEq/mL chez un donneur de sang asymptomatique parmi 3 donneurs possédant de l'ARN viral.

Pour le CHIKV, Carletti et al. (2007) ainsi que Vanlandingham et al. (2013) ont estimé qu'une dose infectieuse de 1 TCID<sub>50</sub> correspond à 200 gEq/mL.

La charge minimale considérée comme infectante lors d'une éventuelle transmission par transfusion à des patients affaiblis ou immunodéprimés n'est pas connue. Une contamination de techniciens de laboratoire ou du personnel soignant a cependant déjà été observée plusieurs fois lors de manipulations de sang en provenance de patients infectés (Cordel et al., 2006).

<sup>6</sup> En début de la vague épidémique, environ 500 autres dons de plaquettes ont été testés par RT-PCR et deux d'entre eux étaient positifs mais la charge virale n'est pas précisée (Brouard et al., 2008). Puisque le nombre de cas symptomatiques a décliné spectaculairement à partir du mois d'avril 2006, le maintien des critères d'exclusion des donneurs renforcés a probablement éliminé tout don contaminé additionnel.

Pour le CHIKV, le risque de conséquences cliniques sérieuses est estimé élevé (Petersen & Busch, 2010); toutefois, des données préliminaires récentes (ANSM, 2014; Busch, 2015) font penser que la transmission du CHIKV par transfusion demeure sans conséquences cliniques majeures chez les receveurs de composants sanguins, y inclus les receveurs de plaquettes.

Le CSS n'a pas connaissance d'études détaillées sur le cloisonnement du virus dans le sang, pourtant le CHIKV est capable de s'associer de manière préférentielle avec les plaquettes (Larke & Wheelock, 1970).

Le CHIKV peut maintenir un cycle d'infection homme-moustique-homme indépendamment d'un réservoir animal.

Pour le CHIKV, la cinétique de la virémie post-infection passe par une phase aiguë qui peut s'étendre jusqu'à 20 jours après l'infection. Les symptômes apparaissent rapidement dès l'augmentation de la virémie, parfois un jour plus tard. Environ 25 % des donneurs pourtant infectés ne montrent jamais de symptôme apparent.

Le **niveau le plus élevé de la charge infectieuse** se situe vers  $5.10^7$  TCID<sub>50</sub>/mL de plasma (c.-à-d. **7,70 log<sub>10</sub>**).

La charge virale minimale considérée comme infectante lors d'une transfusion de plaquettes n'est pas connue. A ce jour, aucune conséquence clinique n'a encore été décrite suite à une transmission des souches contemporaines de CHIKV par transfusion.

## 5. La vérification de l'aptitude et de l'efficacité des techniques

Jusqu'à présent l'aptitude des méthodes PRT à réduire des pathogènes dans les concentrés plaquettaires a été estimée au travers d'essais biologiques hautement spécialisés faisant usage de méthodes de cultures cellulaires standardisées au niveau international (ICH, 1999). Ces essais avaient été standardisés dans le cadre de la fabrication industrielle des produits sanguins dérivés du plasma. L'évaluation détaillée de l'efficacité des différentes méthodes concerne entre autres le mode et l'interprétation des expériences (choix des souches virales, modalités d'inoculation, de culture cellulaire, de détection virale, etc.). Une attention est portée aux dangers que certains virus peuvent présenter pour la santé du personnel qui exécute les études de clairance virale.

Le processus de fabrication des dérivés plasmatiques englobe typiquement plusieurs étapes physicochimiques, avec des étapes dédiées possédant chacune un niveau de réduction qui peut atteindre 6 log ou plus pour les virus enveloppés dont la résistance au traitement est de niveau faible à moyen. Pour le WNV, Kreil et al. (2003) et Jakubik et al. (2004) ont démontré un taux de réduction de  $\geq 5$  ou 6 log par étape de fabrication dédiée. Il est important de noter que ces processus de fabrication font conjointement intervenir des étapes d'élimination des virus (précipitation, filtration, etc.) qui augmentent de manière significative la marge de sécurité des produits inactivés (Dichtelmüller et al., 2011). Enfin, les charges virales sont considérablement diluées par la mise en commun de nombreux dons de plasma; Pfeleiderer et al. (2008) ont évalué cette charge à  $< 10^3$  gEq WNV/mL plasma. C'est ainsi que pour le WNV aucun patient ayant reçu des dérivés plasmatiques n'est connu avoir été infecté en dépit de l'absence de dépistage sur le plasma source.

Pour le CHIKV, la nucléocapside est plus fortement ancrée sur les protéines structurales de l'enveloppe que chez le WNV, ce qui rendrait le CHIKV plus résistant aux méthodes PRT. Leydold et al. (2012) viennent effectivement de montrer que ce virus est fréquemment 10 à 15 fois plus résistant aux traitements physicochimiques que le WNV. Néanmoins, lors de la fabrication des dérivés plasmatiques, des taux de réduction de  $\geq 6$  log ont pu être établis pour certaines étapes de fabrication dédiées. Les charges virales présentes dans les *pools* de plasma contenant éventuellement des dons contaminés par le CHIKV seront également diluées mais le CSS n'a pas connaissance d'études sur ce sujet.

La traditionnelle méthode physicochimique de réduction des agents pathogènes — à savoir, la technique solvant-détergent — est également utilisée pour inactiver les virus dans le plasma pour transfusion. Actuellement, d'autres processus PRT ont été conçus pour une utilisation sur des prélèvements individuels de plasma ainsi que les concentrés plaquettaires; ces méthodes ciblent les acides nucléiques des pathogènes notamment par l'utilisation de la lumière visible ou ultraviolette et souvent l'ajout d'un additif (Rock, 2011; Tsen et al., 2014). Dans ces cas-ci, il y a nettement moins d'étapes conjointes d'élimination des virus et pas de dilution significative de la charge virale comme, par exemple, lors du traitement de plaquettes prélevées par aphérèse chez un seul donneur.

En ce qui concerne la détection du taux d'infection lors des études de clairance virale, Farshid (2002) et Dichtelmüller et al. (2011) recensent les principaux facteurs qui peuvent influencer l'obtention des valeurs réelles de réduction virale. En pratique, l'étendue dynamique du test de détection peut dépendre ou être limitée par:

- le titre et le volume de l'*inoculum* utilisé;
- la dilution des échantillons afin d'éviter leur cytotoxicité;
- le volume de l'échantillon étalé sur les cultures cellulaires utilisées.

Dichtelmüller et al. (2011) indiquent que, selon l'*inoculum* et le volume de l'échantillon étalé dans les cultures cellulaires par différents laboratoires, même une réduction de  $6 \log_{10}$  n'exclut aucunement la détection d'infections résiduelles.

C'est pourquoi une marge de sécurité de 3 à  $5 \log_{10}$  de réduction virale est exigée par certaines autorités sanitaires pour le plasma (Farshid, 2002). Pareillement, Epstein (2010) recommande une marge de sécurité d'au moins  $3 \log_{10}$  de la charge infectieuse pour les taux de réduction établis pour les plaquettes.

Par ailleurs, la charge virale (voir Figure 1) s'exprime par millilitre de plasma: elle ne tient dès lors pas compte des virus défectueux ou des particules virales s'agrégeant éventuellement sur les composants sanguins cellulaires (Flaujac et al., 2010). Les charges infectieuses estimées sont alors plutôt représentatives pour des composants sanguins tels le plasma (Rios et al., 2007; Chancey et al., 2012) et pourraient être plus élevées pour les plaquettes (Lee et al., 1993; Lee et al., 1998).

A cette évaluation *in vitro* préalable s'ajoutent des précisions au sujet de la préparation des concentrés plaquettaires comme p.ex. les paramètres de centrifugation, la version du dispositif médical employé pour obtenir les résultats, etc. Puisque les concentrés plaquettaires peuvent être préparés par de très nombreuses voies alternatives, ils sont en fait susceptibles d'être affectés différemment par un même traitement de réduction de pathogènes.

Dernier point, mais non le moindre, il ne faut pas sous-estimer les fluctuations propres au donneur qui affectent les prélèvements de concentrés plaquettaires — p.ex. le contenu en lipides plasmatiques, le degré d'agrégation des plaquettes (van der Meer et al., 2015), etc.

En effet, l'implémentation de ces techniques dans la routine montre parfois des variabilités importantes dans l'efficacité (cf. CSS, 2011; CSS 2011b; Müller et al., 2011).

Au vu de la variabilité des paramètres, et plus particulièrement ceux concernant la préparation en routine, le CSS recommande qu'une **marge de sécurité d'au moins 3 log<sub>10</sub>** de la charge infectieuse soit mise en œuvre pour les taux de réduction ayant trait aux virus enveloppés dans les concentrés plaquettaires.

## 6. Les foyers épidémiques des infections par les virus West Nile ou Chikungunya

### 6.1. Les épizooties de WNV

Le WNV a été isolé pour la première fois en 1937 dans le district de *West Nile* en Ouganda chez une femme souffrant d'une forte fièvre. C'est dans les années 1950, en Egypte et en Israël, qu'il a été reconnu comme virus se transmettant par des piqûres de moustiques aux oiseaux. Les mammifères peuvent également être infectés quand les moustiques pullulent, notamment les chevaux et les êtres humains. De nombreux moustiques sont impliqués dans la transmission mais en particulier le moustique le plus répandu dans les régions tempérées, *Culex pipiens*, a permis une colonisation rapide des autres continents aidé par les transports et commerces internationaux. La migration des oiseaux à partir de l'Afrique et l'importation du moineau domestique sont également incriminés. Parmi les oiseaux, les corneilles succombent facilement au WNV.

Avant les années 1990, le WNV était endémique en Afrique (lignée 1A et lignée 2), en Australie (lignée 1B), au Moyen-Orient et en Inde (lignée 1C) et toute infection occasionnelle d'êtres humains était considérée comme bénigne. Depuis les années 1990, une souche 1A plus invasive et pouvant mener à des conséquences cliniques graves (encéphalites mortelles) a commencé à se répandre (Artsob et al., 2009). Seul de petites flambées étaient observées en Europe (Kilpatrick, 2011) mais trois épidémies majeures ont eu lieu à Bucarest, Volgograd et en Israël avec des dizaines de cas mortels (Reiter, 2010). En 1999, le WNV a émergé en Amérique du Nord, déclenchant une épizootie spectaculaire et sans précédent: en quatre ans le WNV était omniprésent aux USA et au Canada, avec chaque été des épidémies à partir du mois de juillet jusqu'à fin octobre ainsi que des patients présentant une maladie neuroinvasive du Nil occidental. Jusqu'en 2009, quelque 1,8 millions de personnes ont été infectées aux USA, avec 12.852 cas déclarés de méningo-encéphalite et 1.308 décès (Artsob et al., 2009). Depuis lors, cette souche de WNV a envahi l'Amérique centrale et du Sud.

La transmission par transfusion a été mise en évidence aux USA (Pealer et al., 2002) et les dons de sang américains sont dépistés par des tests NAT qui ont été validés pour détecter la lignée 1A du WNV. Chez les voyageurs revenant d'Amérique des infections ont pu être confirmés dans les laboratoires européens (Charles et al., 2003; Prick et al., 2003; Maillo et al., 2008) amenant les autorités européennes à instaurer un critère d'exclusion temporaire au don de sang.

Depuis 2008, de nouveaux foyers d'infection WNV sont apparus en Europe en parallèle avec des épizooties étendues dans le Sud de la Russie ainsi que des foyers au Moyen-Orient ou au Maghreb (ECDC, 2011). Une « zone touchée » est une zone à risque avec transmission en cours de virus aux humains (Domanovic & Giesecke, 2012). Il est important de noter que les flambées de cas humains neuroinvasifs observées en Russie, Roumanie, Grèce, Italie, Sardaigne et Serbie étaient causées par la lignée 2 du WNV (Hernández-Triana et al., 2014). En même temps, Venter & Swanepoel (2010) confirmaient que les cas de méningo-encéphalite apparus en Afrique du Sud étaient causés par la lignée 2 auparavant considérée anodine.

Cette lignée est originaire d'Afrique subsaharienne et de Madagascar mais avait déjà été découverte fortuitement chez des rapaces hongrois en 2004, puis chez des oiseaux autrichiens. Le dépistage génomique par NAT a pu être rapidement utilisé en Italie et en Grèce parce que différents tests étaient déjà amplement validés lors de l'épizootie nord-américaine. Néanmoins, il y a lieu d'ajuster la technique de dépistage afin de détecter efficacement les différentes souches de WNV circulant en Europe (cf. Linke et al., 2007) et dans un contexte de virus interférant (Gaibani et al., 2010).

## **6.2. Les épidémies de CHIKV**

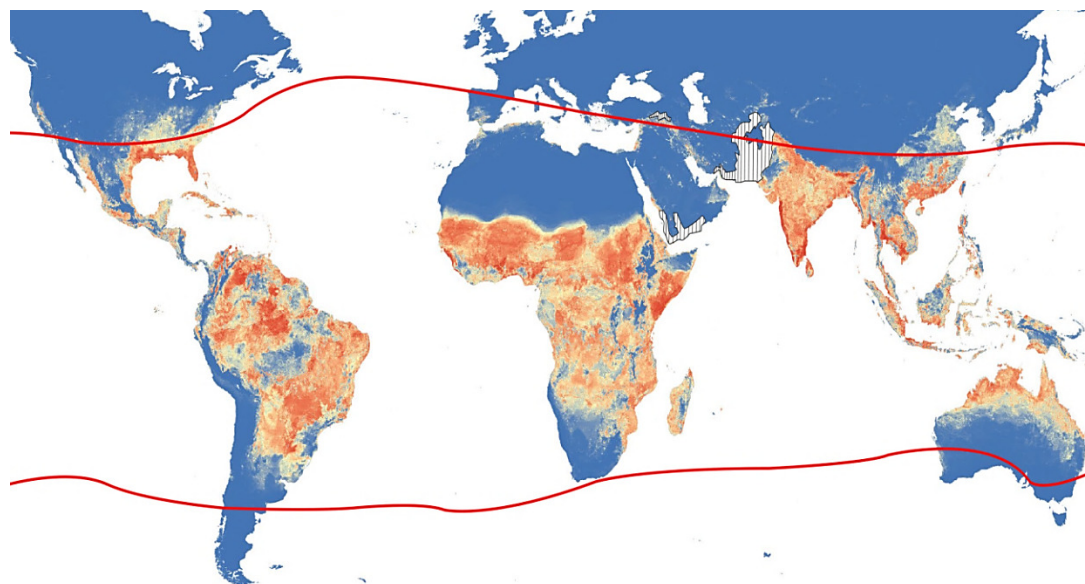
Le CHIKV a été isolé pour la première fois en 1953 lors d'une épidémie de fièvre sur le plateau du Makonde en Tanzanie. Puisque la maladie occasionne de très fortes douleurs articulaires associées à une raideur, le nom d'origine signifie « *maladie de l'homme courbé* ». C'est l'épidémie inattendue du Chikungunya sur les îles de l'Océan indien en 2006 qui a propulsé cette maladie « émergente » en avant des préoccupations sanitaires internationales. Cependant, à la lumière des nouvelles connaissances du tableau clinique évocateur, un certain nombre d'épidémies de « dengue » apparues ces derniers 250 ans ont pu être réattribués rétrospectivement au Chikungunya (Carey, 1971; Halstead, 2015).

Le CHIKV se transmet par des piqûres de moustiques tropicaux et se maintient dans un cycle zoonotique complexe en Afrique et Asie faisant surtout intervenir des singes. A des intervalles de 40 – 50 ans, il rentre dans un cycle urbain homme-moustique-homme déclenchant des pandémies explosives et étendues. Le principal moustique impliqué dans la transmission est *Aedes aegypti*, le vecteur de la fièvre jaune et de la Dengue. Son aire de répartition couvre les régions tropicales et subtropicales (voir Figure 4). Ces derniers 50 ans l'incidence de la Dengue a augmenté de 30 fois avec, pendant la décennie en cours, une expansion des sites urbains vers les campagnes. La propagation de virus par ce moustique est donc désormais intense jusqu'aux limites géographiques potentielles dans l'hémisphère nord (Mexique, Népal) et sud (Nord de l'Argentine, Swaziland). En Europe, *A. aegypti* est endémique sur l'île de Madeira.

Depuis 2004, *Aedes albopictus* (le « moustique tigre ») a permis au CHIKV une colonisation rapide des autres continents à partir de la côte du Kenya et les îles de l'Océan indien. En Afrique et Amérique du Sud, l'aire de répartition tropicale et subtropicale est pour le moment encore plus restreinte que celle de *A. aegypti* mais ce moustique a déjà envahi les régions tempérées, aidé par les transports et commerces internationaux. Depuis quelques décennies, il a notamment colonisé la côte est des USA (jusqu'au-delà Chicago), la côte méditerranéenne de l'Espagne à la Grèce et a descendu la côte est de l'Australie (jusqu'au-delà Sidney). La côte est de la Chine, la Corée du Sud et le Japon font du reste partie de son aire d'origine.

Dans les régions tempérées *A. albopictus* rentre en diapause pendant l'hiver et ne peut pas transmettre le CHIKV au printemps suivant; par contre, dans les zones sans hiver marqué, les moustiques femelles restent actives toute l'année.

**Figure 4.** Zones à risque de transmission du CHIKV par le moustique *Aedes aegypti* (ajout des lignes isothermes 10 °C sur carte de répartition dressée par Kraemer et al., 2015). Les régions à transmission de malaria se trouvent à l'intérieur des zones endémiques pour ce moustique, hormis au Kurdistan, au Yémen et au Sud de l'Iran/Afghanistan (marqués ||| sur la carte). Les isothermes de janvier et de juillet indiquent les limites géographiques potentielles dans l'hémisphère nord et sud pour la survie annuelle de ce moustique tropical.



Trois lignées virales sont distinguées: une lignée de l'Afrique de l'Ouest, une lignée de l'Afrique de l'Est, Sud et Centrale et une lignée asiatique. Elles sont principalement propagées par *A. aegypti*.

Avant l'épidémie explosive à La Réunion en 2006, l'infection par le CHIKV était considérée comme invalidante avec des douleurs articulaires et musculaires se dissipant après quelques semaines mais n'engageant pas le pronostic vital. Cependant, une mutation d'une protéine de surface est associée avec la transmission efficace du CHIKV par *A. albopictus* dans les îles de l'Océan indien ainsi que l'apparition de complications cliniques sévères. Arrivée en Inde et en Asie du Sud-est, cette lignée s'est établie à côté de la lignée asiatique locale. Cette souche est plus virulente, causant des complications neurologiques et un excès de mortalité (Mavalankar et al., 2008; Robin et al., 2008). En 2007, cette lignée du CHIKV a été importée dans le Nord-est de l'Italie où quelques 250 personnes ont montré des symptômes durant l'été 2007, mettant à mal l'approvisionnement en sang du pays (Liumbruno et al., 2008). D'autres foyers sont apparus au Gabon.

La lignée asiatique a commencé une expansion en Chine et en Océanie (île de Yap, Polynésie) et a déclenché une spectaculaire expansion en Amérique, touchant une dizaine de millions de personnes dans les Caraïbes puis en Amérique centrale et du Sud pendant l'année 2014. La maladie a d'abord été reconnue fin 2013 dans les Antilles françaises, un territoire outremer de la France bien surveillé. La dispersion cosmopolite de cette nouvelle souche virale a été précédée par une épidémie de grande envergure aux Philippines en 2012 (Tan et al., 2015).



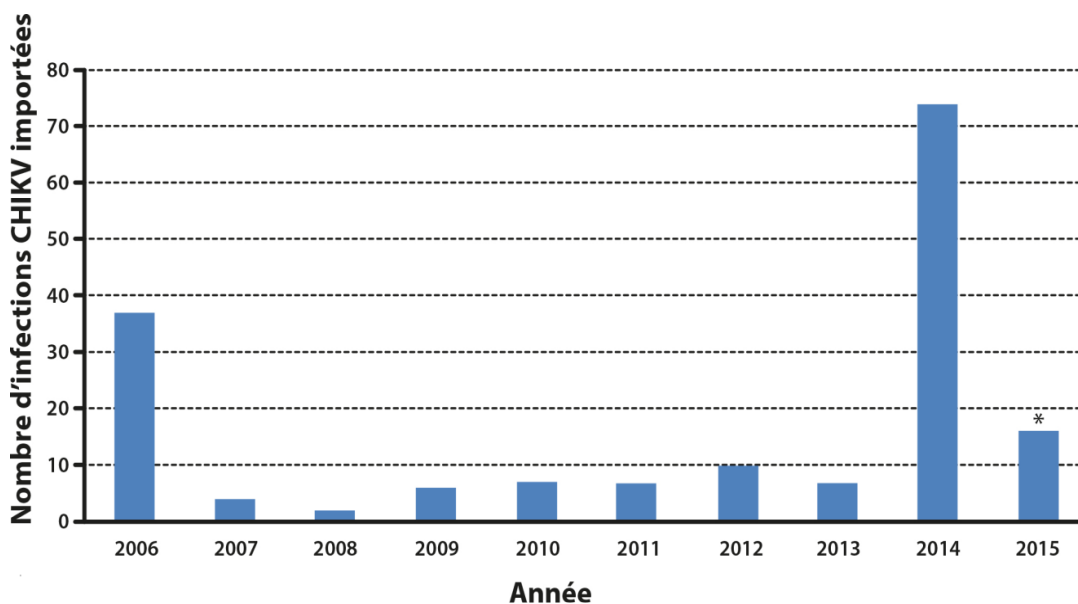
Cette vaste épidémie continue à l'heure actuelle avec des foyers explosifs apparaissant vers les limites de la répartition du moustique *A. aegypti* jusqu'au Pérou et Paraguay ainsi qu'au Mexique. Un petit foyer de cette lignée est apparu l'année passée en Floride (11 personnes symptomatiques).

Au Brésil, la lignée de l'Afrique de l'Est, Sud et Centrale a également pris pied pendant l'été 2014 dans l'état de Bahia sur la côte atlantique mais la mutation favorisant une transmission par le moustique tigre est absente. Un autre petit foyer de la lignée de l'Afrique de l'Est, Sud et Centrale est apparu en 2014 autour de Montpellier en France (12 personnes symptomatiques).

Comme le virus de la fièvre jaune, le CHIKV va pouvoir établir un cycle zoonotique faisant intervenir les singes du Nouveau-Monde et se maintenir sur ce continent à partir de ce réservoir. En Asie un tel cycle ne semble s'être jamais établi et le CHIKV y circule par transmission strictement humaine aux alentours des maisons.

Chez les voyageurs revenant des zones touchées par le CHIKV, des infections ont pu être confirmées dans les laboratoires européens et américains (Parola et al., 2006; Panning et al., 2008; Gibney et al. 2011; voir Fig. 5). Le nombre de cas symptomatiques ainsi dépistés est clairement proportionnel à l'apparition de vastes épidémies dans les régions touristiques comme La Réunion en 2006 et les Caraïbes en 2014 (voir Figure 5).

**Figure 5.** Fluctuation du nombre d'infections CHIKV probables et confirmées chez des voyageurs de retour en Belgique suivant les années de propagation du virus dans les régions visitées (Van den Bossche et al., 2015; M. Van Esbroeck, *pers. comm.*).



\* nombre d'infections identifiées de janvier à juin 2015

La transmission par transfusion a été suspectée et a déclenché, par précaution, le respect de périodes d'ajournement temporaire au don de sang lors de l'épidémie sur les îles du sud-ouest de l'Océan indien et au Nord-est de l'Italie (voir CSS, 2007b). La plupart des autres régions où le

CHIKV circulait étaient déjà exclues par les critères d'ajournement concernant la malaria (voir Figure 4). Tout récemment, la transfusion de composants sanguins contaminés par la lignée asiatique du CHIKV a effectivement été mise en évidence (ANSM, 2014; Busch, 2015); toutefois, au vu des données préliminaires disponibles, elle semble sans conséquence majeure pour les receveurs.

### 6.3. Les stratégies de réduction des risques infectieux liés aux voyageurs

La transmission des souches de WNV et CHIKV est caractérisée par l'apparition de foyers et une fluctuation saisonnière des épidémies qui peuvent parfois survenir inopinément. Par conséquent, les stratégies d'exclusion des voyageurs au retour d'une zone touchée possèdent quelques entraves (Lieshout-Krikke et al., 2013; Seed et al., 2014; Petersen & Epstein, 2015):

- la délimitation des zones touchées est une complication inhérente;
- la durée optimale<sup>7</sup> de la mise en œuvre de l'ajournement au don de sang reste incertaine;
- les mesures de sécurité peuvent être instituées après que la plus grande menace d'une nouvelle épidémie est passée.

Pour ces raisons, ainsi que la lourdeur de devoir ajuster continuellement la stratégie aux nouveaux foyers, la Belgique s'est dotée d'un critère commun d'exclusion au don de sang pour tout donneur déclarant un récent voyage outre-mer (CSS, 2007). L'apparition d'un nombre croissant de zones touchées par le WNV en Europe, mais également de petits foyers de Dengue et Chikungunya, complique à nouveau la gestion des stratégies de réduction des risques infectieux.

Dans toutes ces situations, la PRT pourra contribuer à diminuer le risque de transmission des souches virales par transfusion en l'absence de dépistage spécifique pour un pathogène. Par ailleurs, les méthodes PRT validées peuvent conférer une protection considérable quand les charges virales chez le donneur ne dépassent pas le plafond d'efficacité. Pour l'instant, néanmoins, le composant sanguin le plus transfusé — à savoir, le concentré érythrocytaire — ne se laisse pas encore traiter efficacement par PRT (voir rubrique 7). C'est pourquoi le dépistage génomique des dons de sang est de plus en plus mis en œuvre dans les zones touchées afin de protéger l'ensemble de l'approvisionnement en sang à risque de contamination (Seed, 2014). Une sous-déclaration de la transmission du WNV résultera dans les zones à faible prévalence (c.-à-d. renfermant seulement un nombre minimal de cas neuroinvasifs) de l'absence d'un dépistage du WNV représentatif de la population — p.ex. chez les donneurs de sang. Quand un tel programme de surveillance a été mis en œuvre dans l'Est de l'Autriche, Jungbauer et al. (2015) ont pu identifier un donneur de sang infecté par la lignée 2 au mois d'août 2014. A présent, environ 67.800 dons de sang ont été testés dans cette région.

Un dépistage NAT fut également mis en œuvre en Angleterre et le Nord du Pays de Galles ciblant les voyageurs « à risque » d'infection WNV durant la saison 2012 (NHSBT, 2013). Puisqu'aucun donneur confirmé WNV positif ne fut détecté lors de ce dépistage, les services du sang anglais n'ont pas été obligés d'ajourner 30.000 dons de sang selon les critères d'exclusion en place pour ce virus. Ce nombre de dons correspond à 1,47 % de tous les dons testés, c.-à-d. à peu près équivalent au nombre de dons dépistés pour l'hépatite B par les anticorps anti-HBc ou pour la malaria par les anticorps anti-malaria.

<sup>7</sup> p.ex. la saison de l'épizootie WNV étasunienne s'est prolongée en 2012 pendant 1 mois de plus par rapport aux autres années.

Au Pays-Bas, annuellement environ 28.000 donneurs sont ajournés au retour d'un séjour dans des pays à risque pour la fièvre Congo-Crimée, la dengue, la malaria, la leishmaniose viscérale, les virus WNV et CHIKV (Lieshout-Krikke et al., 2013). Ce nombre correspond à 2,7 % de tous les donneurs. Ces auteurs ont estimé un nombre très faible de voyageurs infectés au retour de nouvelles zones touchées par le WNV (région en Grèce ou Italie) ou le CHIKV (Thaïlande). Quelque 5.500 donneurs hollandais avaient été exclus pendant 4 semaines après avoir visité les zones touchées en Italie et Grèce. Puisque les destinations et habitudes des voyageurs (touristes, déplacements professionnels) sont spécifiques à chaque pays, une analyse précise pour la Belgique doit encore être conduite.

Enfin, toute proposition de modification des périodes d'exclusion au don de sang pour un pathogène donné doit tenir compte d'éventuelles périodes d'ajournement en place pour d'autres pathogènes présents dans les zones touchées. La transmission du CHIKV a lieu par l'intermédiaire de moustiques dont les principales espèces sont répandues dans les pays tropicaux et subtropicaux. Ces pays recouvrent essentiellement la zone où la malaria est endémique (voir Figure 4). Etant donné que la malaria fait partie des maladies infectieuses à exclure chez tout donneur de sang, les candidats donneurs arrivant d'un pays où la malaria est endémique sont écartés du don pendant 6 mois (cf. AR du 1 février 2005; Annexe, 2., a) Infections). En outre, des coïnfections chikungunya-malaria sont possibles (Raut et al., 2015). Après raccourcissement d'une période d'exclusion pour un pathogène donné, la vigilance doit être renforcée pour les autres pathogènes qui posent un risque transfusionnel avéré<sup>8</sup>. Par exemple, aux USA — zone endémique pour le WNV — la babésiose viscérale représente un risque transfusionnel sérieux (Leiby, 2006; Goss et al., 2012; Gray & Herwaldt, 2015). Les épidémies de Chikungunya chevauchent souvent des épidémies de Dengue et environ 3 % de coïnfections chikungunya-dengue ont été découvertes en zone épidémique ou parmi les voyageurs en retour de ces régions (Pialoux et al., 2007; Kalawat et al., 2011). Par contre, 50 % de coïnfections ont été observées Saswat et al. (2015). L'étendue du risque transfusionnel du virus de la dengue est actuellement sous enquête (Semenza & Menne, 2009; Arellanos-Sotos et al., 2015). En revanche, puisque 15 % des décès directement attribués au CHIKV ont été liés à une coïnfection (INS, 2015), les personnes atteintes par ces deux virus pourraient montrer des symptômes sévères et, partant, être exclus du don de sang sur cette base.

Le WNV est répandu sur tous les continents et circule dans les régions tempérées. En Europe, les zones en péril ou touchées par le WNV se sont étendues au cours de ces dernières années. Au cours de la dernière décennie, le CHIKV est rentré en phase pandémique et est maintenant présent dans toutes les régions tropicales et subtropicales avec des incursions vers les régions tempérées. Le nombre de voyageurs infectés par ces virus est proportionnel à l'intensité des épidémies ainsi qu'aux destinations et habitudes de voyage (saison, altitude, durée du séjour, etc.).

L'opportunité de raccourcir une période d'ajournement au don de sang pour un pathogène repose sur la capacité de réduire un éventuel autre pathogène pour lequel une période d'exclusion est obligatoire et qui peut être présent chez le donneur par coïnfection. L'éventuel raccourcissement des périodes d'exclusion après PRT doit donc conduire à un renforcement de la vigilance pour les pathogènes qui posent un risque transfusionnel avéré et ne se laissent pas complètement éliminer par la méthode mise en œuvre.

<sup>8</sup> A noter que le risque transfusionnel est parfois considéré comme plus élevé pour certains composants sanguins, p.ex. les concentrés plaquettaires en cas de maladie de Chagas (Cancino-Faure et al., 2015).

## 7. L'applicabilité des méthodes de réduction des pathogènes aux concentrés plaquettaires

En Belgique, la réduction des pathogènes dans les concentrés plaquettaires est autorisée par Arrêté Royal depuis février 2005 en tant qu'alternative à la détection de la contamination bactérienne pour prolonger la durée d'entreposage des plaquettes de 5 jours à 7 jours. Plus récemment, le CSS a recommandé que les concentrés plaquettaires pathogènes-réduits ne puissent pas être conservés au-delà de 5 jours après le prélèvement (voir CSS, 2011b). Cette limitation de la durée d'entreposage est entrée en vigueur par Circulaire depuis novembre 2009 (AFMPS, 2009). Par ailleurs, l'Arrêté Royal de juin 2009 stipule que « *tous les concentrés plaquettaires doivent subir une méthode de réduction des pathogènes validée* »; cet Arrêté est entré en vigueur depuis le 1 juillet 2015. Les textes législatifs visent donc aussi bien les concentrés plaquettaires préparés au moyen d'aphérèse (c.-à-d. par prélèvement sélectif au moyen d'un séparateur de cellules) que ceux obtenus à partir de *buffy coats* ou couches leucoplaquettaires, à savoir, par fractionnement du sang total en plasma, plaquettes et érythrocytes (CSS, 2010).

Puisque les périodes d'ajournement au don de sang qui visent les pathogènes affectent l'ensemble des composants sanguins prélevés chez le donneur potentiel, et comme à ce jour il n'existe aucune méthode PRT validée pour les concentrés érythrocytaires (cf. CSS, 2008), l'avis ne s'applique pas aux concentrés préparés à partir du sang total (voir Tableau 1). D'autres composants sanguins sont également prélevés lors de la préparation de concentrés plaquettaires par aphérèse multi-composants. En raison de la demande croissante en plasma, très peu de concentrés de plaquettes d'aphérèse seuls ont été prélevés en 2008 et 2009; le prélèvement se faisait plutôt par aphérèse double de plaquettes et plasma. Depuis 2010, cette répartition est intervertie avec en 2013 plus de 50 % des plaquettes d'aphérèse provenant de thrombocytophèreses. Pour les plaquettes d'aphérèse double, les périodes d'exclusion doivent être raccourcies en fonction du taux de réduction du composant prélevé le plus contraignant.

**Tableau 1.** Répartition du nombre de concentrés plaquettaires préparés annuellement en Belgique selon les techniques de collecte utilisées (AFMPS, 2013; AFMPS, 2015; L. Muylle, *pers. comm.*).

Provenance des plaquettes	Année de prélèvement					
	2008	2009	2010	2011	2012	2013
<b>Sang total</b>	40.049	41.100	32.971	32.621	33.437	33.040
<b>Aphérèse double</b> (plaquettes + plasma <sup>△</sup> )	22.614	25.079	15.314	15.013	13.471	15.558
<b>Thrombocytophérèse</b>	4.522	1.886	12.133	13.710	15.543	17.009
<b>Total des prélèvements</b> <sup>◇</sup>	65.030	68.910	69.328	68.966	69.447	68.800

<sup>△</sup> Une partie de ce plasma peut être destiné au fractionnement industriel.

<sup>◇</sup> Certains prélèvements d'aphérèse donnent lieu à deux concentrés plaquettaires.

Les méthodes physicochimiques de réduction des pathogènes dans le plasma ne sont pas utilisées pour inactiver les agents pathogènes dans les concentrés plaquettaires puisque ces technologies endommagent également les composants cellulaires (par exemple, la technique solvant-détergent abîme de manière ciblée la couche lipidique des membranes cellulaires). Les processus PRT qui ont été explorés jusqu'à présent pour une utilisation sur les concentrés plaquettaires font usage de rayons lumineux afin d'abîmer les acides nucléiques des agents pathogènes, après ajout ou non d'un additif photoactivable (Mohr & Redecker-Klein, 2003; Mohr et al., 2009; Salunkhe et al., 2015). L'aptitude de ces méthodes PRT à réduire des pathogènes a été estimée au travers des mêmes méthodes de cultures cellulaires mises en œuvre lors de la fabrication industrielle des produits sanguins dérivés du plasma.

L'efficacité de réduction virale doit être établie dans des conditions de laboratoire à échelle réduite représentative du fonctionnement de l'unité commerciale qui est mise en œuvre dans les établissements de transfusion sanguine (Friedman & Stromberg, 1993; Friedman et al., 1995; Farshid et al., 2005; Dichtelmüller et al., 2011). Les approches qui incluent des étapes non conformes de fabrication (p.ex. lavage des plaquettes<sup>9</sup>) ou en omettent ne sont pas acceptables. L'interférence des ingrédients du produit — comme p.ex. les solutions de conservation, les leucocytes résiduels, les plaquettes elles-mêmes — avec les épreuves utilisées pour déterminer le titre de virus infectieux doit être évaluée séparément car ces éléments peuvent avoir un effet néfaste sur les cellules indicatrices (ICH, 1999).

Pour le virus CHIKV, il est aussi important de rappeler sa capacité à s'associer de manière préférentielle avec les plaquettes (Larke & Wheelock, 1970). En outre, Chernesky & Larke (1977) ont précisé que quand ce virus peut s'entourer de gros agrégats plaquettaires, cela contrecarre une inactivation efficace du virus par la chaleur. La validation des méthodes de PRT dans les plaquettes doit tenir compte de cette particularité (voir CSS, 2007) étant donné que la pénétration adéquate des rayons lumineux nécessaire à l'efficacité de ces techniques risque d'être compromise dans les concentrés plaquettaires. En clair, la charge infectieuse pourra s'avérer plus élevée dans les plaquettes par rapport à celle présente dans le plasma.

De nombreuses études ont montré que la capacité de réduction de ces méthodes PRT dépend de la solution de conservation utilisée pour maintenir les plaquettes pendant la période d'entreposage — à savoir, soit du plasma autologue, soit un mélange constitué d'environ 1/3 de plasma et 2/3 d'une solution de conservation des plaquettes (CSS, 2010). Plusieurs études ont en effet montré que les protéines du plasma entravent la pénétration adéquate des rayons UV (Terpstra et al., 2008; Mohr et al., 2009b; Störmer et al., 2010; Yomtovian & Jacobs, 2010). Les valeurs de réduction recensées pour de nombreux pathogènes sont similairement plus faibles en 100 % plasma<sup>10</sup> que celles obtenues quand il s'agit d'expériences utilisant la même quantité d'énergie délivrée à des plaquettes resuspendues dans une solution additive (cf. Irsch & Lin, 2011; Marschner & Goodrich, 2011; Seltsam & Müller, 2011). Par ailleurs, les taux de réduction sont typiquement obtenus par une analyse de quatre à six échantillons et sont exprimés sous forme de valeurs moyennes (Lin et al., 2005; Goodrich et al., 2006; Mohr et al., 2009b; Tsetsarkin et al., 2013). Quand l'écart-type est renseigné, il est d'environ 0,5 log<sub>10</sub> pour les études avec les plaquettes en solution additive tandis que l'écart-type pour les études avec les plaquettes en plasma autologue peut dépasser 1 log<sub>10</sub> (cf. Tsetsarkin et al., 2013).

<sup>9</sup> Par exemple, Sawyer & Dupuis (2006) ou Cazenave et al. (2007).

<sup>10</sup> Pourtant cela ne semble justement pas être le cas pour les virus WNV et CHIKV pour lesquels les capacités réductrices annoncées par Irsch & Linn (2011) sont environ 1 log<sub>10</sub> plus élevées pour les plaquettes en plasma autologue qu'en solution additive.

En outre, le titre initial de virus qui peut être obtenu expérimentalement pour inoculer les plaquettes en solution additive est pratiquement  $1 \log_{10}$  plus faible que celui pour les plaquettes en plasma autologue. Cependant, pour le CHIKV, les titres infectieux plus élevés qui peuvent être obtenus en présence de plasma imposent une limite aux techniques photochimiques ou photodynamiques: une charge infectieuse au-delà d'environ  $10^{6,5}$  à  $10^7$  TCID<sub>50</sub>/mL<sup>11</sup> (Sawyer et al., 2007; Tsetsarkin et al., 2013) ou au-delà de  $10^6$  TCID<sub>50</sub>/mL (Rossini et al., 2011) empêche de parvenir aux valeurs de réduction virale dans ces conditions expérimentales.

Somme toute, la capacité réductrice de ces méthodes PRT dans les concentrés plaquettaires correspondra approximativement à la limite inférieure du taux de réduction obtenu en solution additive.

Puisque, à ce jour, il n'existe aucune méthode PRT validée pour les concentrés érythrocytaires, l'avis ne s'applique pas aux concentrés préparés à partir du sang total. Pour les plaquettes d'aphérèse double, les périodes d'exclusion doivent être raccourcies en fonction du taux de réduction du composant prélevé le plus contraignant.

La capacité de réduction des méthodes PRT dans les concentrés plaquettaires correspondra approximativement à la limite inférieure du taux de réduction obtenu en solution additive.

## 8. La capacité des méthodes PRT à réduire les virus WNV et CHIKV dans les concentrés plaquettaires

Les données rendues publiques actuellement pour trois systèmes PRT commerciaux indiquent généralement des taux de réduction de  $4,5 \log_{10}$  TCID<sub>50</sub>/mL ou plus<sup>12</sup> pour le WNV (Ruane et al., 2004; Lin et al., 2005; Gallian et al., 2006; Mohr et al., 2009b). Ces données attestent davantage la sensibilité élevée du WNV à l'exposition aux rayons lumineux (Mohr et al., 2004) mais le CSS n'a pas connaissance d'études comparatives indépendantes évaluant ces méthodes dans des conditions expérimentales standardisées.

Gallian et al. (2006) déclarent qu'une technique photochimique de PRT mise en œuvre dans des concentrés plaquettaires est aussi efficace sur des souches de WNV européennes que sur les souches américaines (voir rubrique 6.1.). Cependant, la souche de WNV étudiée fait toujours partie de la lignée 1A avec 3,7 % de divergence au niveau de la séquence de l'ARN viral tandis que la lignée 2 aura environ 4 x plus de distance génétique. Bien que le CSS ne s'attend pas à ce que ces virus WNV distincts présentent une résistance significativement accrue aux méthodes PRT, nous ne disposons pas à ce jour d'une validation expérimentale de l'équivalence du taux de réduction.

<sup>11</sup> Sawyer et al. (2007) montrent qu'un titre de  $10^{5,7}$  à  $10^{7,3}$  TCID<sub>50</sub>/mL inoculé dans du plasma a donné lieu à l'apparition d'une ou deux plaques résiduelles et Tsetsarkin et al. (2013) ont observé une charge virale résiduelle de moins de  $1,3 \log_{10}$  dans deux des quatre expériences reproduites.

<sup>12</sup> La méthode d'irradiation par des rayons ultraviolets seuls (Mohr et al., 2009b) serait, selon Seltsam & Müller (2011), moins efficace avec un taux de réduction d'environ  $3,5 - 4 \log_{10}$ .

Pour le CHIKV, les taux de réduction rendus publics pour deux systèmes PRT commerciaux se situent vers  $2 - 3,5 \log_{10}$  ou  $5 - 6 \log_{10}$  TCID<sub>50</sub>/mL respectivement (Sawyer et al., 2007; Sawyer et al., 2009; Rossini et al., 2011; Tsetsarkin et al., 2013; Vanlandingham et al., 2013). Ces études ont quantifié le taux de réduction immédiatement après l'inactivation.

Le CSS précise que Tan et al. (2013) ont évalué la capacité réductrice de ces deux méthodes simultanément et sur une période d'entreposage allant jusqu'à 5 jours. Ces auteurs ont mis en évidence une efficacité de réduction identique pour ces deux techniques photochimiques, réduisant des charges virales infectieuses de  $10^{4,4}$  PFU/mL aux limites de détection (c.-à-d.  $3,75 \log_{10}$  PFU/mL). Le CSS souligne cependant que les titrages par PFU sont fondés sur un comptage difficile à standardiser et que le repérage d'un effet cytopathique par les méthodes de dilution limite TCID<sub>50</sub> est plus fiable. Tsetsarkin et al. (2013) insistent sur l'inclusion d'héparine aux dilutions pour empêcher une perte de sensibilité du test TCID<sub>50</sub> lorsque l'anticoagulant du composant sanguin entre en contact avec les cations divalents du milieu de culture. Vanlandingham et al. (2013) ne mentionnent pas l'utilisation d'héparine. En ce qui concerne les méthodes PRT utilisant des rayons ultraviolets seuls, c.-à-d. sans additif photoactivable, il serait surprenant de découvrir une plus haute photosensibilité chez le CHIKV, étant donné que sa nucléocapside est plus fortement ancrée sur les protéines de l'enveloppe virale que chez le WNV.

L'aptitude des méthodes PRT à réduire des pathogènes dans les concentrés plaquettaires a couramment été évaluée au moyen des mêmes épreuves utilisées pour déterminer le titre de virus infectieux lors de la fabrication industrielle des produits sanguins dérivés du plasma. Bien que les méthodes de cultures cellulaires mises en œuvre possèdent des limites de détection non négligeables, la marge de sécurité des produits plasmatiques inactivés est significativement augmentée par l'emploi de plusieurs étapes d'inactivation/élimination virale. L'expression des facteurs de réduction sous forme de réduction logarithmique du titre signifie que l'infectiosité résiduelle pourra être grandement réduite, mais elle ne sera jamais réduite à zéro (ICH, 1999). C'est ainsi qu'un facteur de réduction identique aux unités infectieuses renfermées dans le concentré laisse une unité infectieuse par mL, à savoir 300 unités infectieuses par concentré plaquettaire. En absence d'étapes d'inactivation ou d'élimination supplémentaires<sup>13</sup> lors de la préparation des concentrés plaquettaires, ces unités infectieuses résiduelles peuvent être transmises par transfusion. La charge virale minimale considérée comme infectante lors d'une transfusion de plaquettes n'est pas connue et, à ce jour, aucune conséquence clinique (grave) n'a encore été dépeinte consécutive à une transmission du CHIKV par transfusion (voir rubrique 4). Toutefois, les concentrés plaquettaires contaminés par le WNV restent infectieux en présence d'un niveau d'ARN viral non réactif au dépistage NAT individuel (voir rubrique 3; Kelly et al., 2013). Par conséquent le CSS estime que, pour prévenir la transmission par transfusion de ces virus, les méthodes PRT validées doivent entièrement réduire les charges infectieuses résiduelles dans les composants sanguins.

Pour pouvoir éliminer complètement le WNV au moment de la phase de virémie, les méthodes PRT doivent aboutir à une réduction d'au moins  $6,5 \log_{10}$  TCID<sub>50</sub>/mL de la charge infectieuse en tenant compte d'une marge de sécurité de  $3 \log_{10}$  (voir rubrique 3 et 5). Pour le CHIKV, au moins  $10,7 \log_{10}$  sont nécessaires (voir rubrique 4 et 5). Au vu des plafonds d'efficacité des méthodes PRT utilisés dans les concentrés plaquettaires, une période d'exclusion couvrant la phase aiguë d'une infection par les virus WNV ou CHIKV reste donc indispensable pour éviter leur transmission par transfusion.

---

<sup>13</sup> Mohr et al. (2004) et Tan et al. (2013) avaient apporté des preuves de la photosensibilité du virus WNV et CHIKV respectivement par simple exposition à la lumière du jour: 60 – 70 % de dégradation du WNV et 27 % du CHIKV, c.-à-d. une partie importante du taux de réduction attribué à la technique PRT.



Le CSS est d'avis qu'une capacité de réduction d'au moins 3,7 log<sub>10</sub> TCID<sub>50</sub>/mL de la charge infectieuse, marge de sécurité incluse, permet de réduire le WNV et le CHIKV après la phase de virémie, c.-à-d. à partir du 12<sup>ième</sup> jour post-infection pour les souches de WNV et du 21<sup>ième</sup> jour pour les souches de CHIKV. De nombreuses méthodes PRT adoptées dans le cadre des concentrés plaquettaires possèdent une capacité de réduction pour WNV et CHIKV au-delà de ce taux de réduction.

Il convient toutefois de rester conscient de la différence fondamentale qui existe entre inactiver des pathogènes dans du plasma acellulaire et réduire des pathogènes dans une préparation de plaquettes cellulaire. Les pathogènes qui n'auraient pas été inactivés après traitement du plasma pour transfusion ne peuvent se multiplier en nombre suffisant pour entraîner une morbidité et la mortalité des patients parce que le plasma est congelé et utilisé en moins de six heures après décongélation en le conservant à froid (CSS, 2010). Or, la situation est tout autre pour les concentrés plaquettaires traités par des techniques qui ciblent uniquement les acides nucléiques: non seulement quelques bactéries non inactivées ont la possibilité de proliférer pendant plusieurs jours à température ambiante mais certains virus peuvent alors également se répliquer à travers la machinerie cellulaire présente dans les plaquettes ou les autres cellules restantes (p.ex. < 10<sup>6</sup> de leucocytes résiduels).

En effet, dans un avis précédent du CSS (2011), il a été fait mention que l'efficacité d'une technique photochimique n'était pas suffisante pour sécuriser complètement les concentrés plaquettaires contre des bactéries présentes à des taux faibles mais pourtant cliniquement significatifs. La prolifération de bactéries après traitement des concentrés plaquettaires a aussi été confirmée par Kwon et al. (2014) et décrite par Schmidt et al. (2015) pour une autre technique photochimique. Il est plausible que la pénétration adéquate des rayons lumineux nécessaire à une élimination complète des pathogènes pourra être compromise dans les concentrés plaquettaires par l'ombrage provoqué par la formation d'agrégats et par les plaquettes elles-mêmes.

Le CSS n'a pas connaissance d'études de l'éventuelle contamination virale restant après traitement des concentrés plaquettaires<sup>14</sup> par des méthodes PRT et couvrant toute la période d'entreposage. Les conséquences de la présence d'une machinerie cellulaire existant dans les plaquettes et/ou dans les leucocytes résiduels n'ont probablement pas été entièrement perçues.

Dans le contexte d'évaluation d'une méthode PRT, Mather et al. (2003) avaient découvert la présence de WNV dans les cellules périphériques mononucléées et montré des infections productives dans les monocytes (v. également Garcia-Tapia et al., 2006; Lanteri et al., 2014). Bai et al. (2010) indiquent en outre que le WNV se réplique dans les cellules neutrophiles. Les monocytes constituent 2 % à 10 % de tous les leucocytes dans le corps humain tandis que les neutrophiles sont les leucocytes les plus abondants (40 % à 75 %) chez les mammifères. Les cellules sanguines impliquées dans l'infection par le CHIKV sont encore mal définies mais Her et al. (2010) prouvent que les monocytes peuvent aussi participer à l'infection. De surcroît, le CHIKV est capable de s'associer de manière préférentielle avec les plaquettes (Larke & Wheelock, 1970; Chernesky & Larke, 1977).

---

<sup>14</sup> Mohr et al. (2004) ont suivi le degré d'inactivation du WNV dans le plasma pour transfusion par amplification génomique. L'ARN viral ne se laissait pas complètement éliminer. Néanmoins, la courte séquence amplifiée ne permet pas de déduire la persistance de virus vivant. En revanche, Aytay et al. (2004) avaient mis au point une méthode d'amplification génomique alternative. Ces techniques d'amplification ne pourront cependant pas être utilisées pour mesurer l'infectiosité résiduelle de toutes les méthodes PRT (cf. Sagripanti et al., 2011).

Tout récemment, Sutherland et al. (2014) et Simon et al. (2015) ont apporté une preuve de principe à la possibilité de production de virus infectieux dans les plaquettes conservées suivant les modalités d'une banque de sang: en quantifiant le virus Dengue jusqu'à la fin de la période de conservation — en l'occurrence, 7 jours d'entreposage — ces auteurs y ont détecté jusqu'à quatre fois plus d'ARN viral.

C'est pourquoi le CSS recommande de vérifier par des études comparatives indépendantes dans quelle mesure l'infectiosité des virus WNV et CHIKV persiste après le traitement PRT des concentrés plaquettaires jusqu'à 7 jours d'entreposage. Pour toute méthode PRT ainsi validée, la période d'exclusion peut être raccourcie jusqu'après la phase de virémie.

Afin d'inactiver le WNV au moment de la phase de virémie, les méthodes PRT doivent aboutir à une élimination complète d'au moins  $6,5 \log_{10}$  TCID<sub>50</sub>/mL de la charge infectieuse en tenant compte d'une marge de sécurité de  $3 \log_{10}$ . Pour le CHIKV, au moins  $10,7 \log_{10}$  TCID<sub>50</sub>/mL sont nécessaires.

Une capacité de réduction d'au moins  $3,7 \log_{10}$  TCID<sub>50</sub>/mL de la charge infectieuse, marge de sécurité incluse, devra permettre de réduire le WNV et le CHIKV après la phase de virémie, c.-à-d. à partir du 12<sup>ème</sup> jour post-infection pour les souches de WNV et du 21<sup>ème</sup> jour pour les souches de CHIKV.

Le CSS estime que les méthodes PRT validées doivent entièrement réduire les charges infectieuses résiduelles et recommande de vérifier, par des études comparatives indépendantes, dans quelle mesure l'infectiosité des souches de WNV et CHIKV persiste après le traitement PRT des concentrés plaquettaires jusqu'à 7 jours d'entreposage.

## CONCLUSIONS

L'opportunité de raccourcir les périodes d'ajournement au don de sang suite à la réduction des pathogènes dans les concentrés plaquettaires contre les souches West Nile et Chikungunya dépend d'un nombre tangible de paramètres. Le CSS a évalué spécialement la charge de virus que les traitements PRT pourraient réduire, la durée de la virémie (maximale) chez ces donneurs, la proportion de donneurs infectés asymptomatiques, la charge infectante minimale, la gravité de la maladie clinique post-transfusionnelle, ainsi que la possibilité d'obtenir une réduction équivalente pour l'un des autres composants prélevés chez le même donneur ou pour un autre pathogène présent chez le donneur par coïnfection.

Puisque, à ce jour, il n'existe aucune méthode PRT validée pour les concentrés érythrocytaires, l'avis ne s'applique pas aux concentrés préparés à partir du sang total. Pour les plaquettes d'aphérèse double, les périodes d'exclusion doivent être raccourcies en fonction du taux de réduction du composant prélevé le plus contraignant.

La charge virale minimale considérée comme infectante lors d'une transfusion de plaquettes n'est pas connue mais peut se situer en-dessous du seuil de détection par amplification génomique individuelle. Pour l'heure, aucune conséquence clinique n'a encore été décrite suite à une transmission des souches contemporaines de CHIKV par transfusion.

Le CSS estime que les méthodes PRT validées doivent entièrement réduire les charges infectieuses résiduelles et recommande de vérifier, par des études comparatives indépendantes, dans quelle mesure l'infectiosité des virus WNV et CHIKV persiste après le traitement PRT des concentrés plaquettaires jusqu'à 7 jours d'entreposage.

Afin d'inactiver le WNV au moment de la phase de virémie, les méthodes PRT doivent aboutir à une élimination complète d'au moins  $6,5 \log_{10}$  TCID<sub>50</sub>/mL de la charge infectieuse en tenant compte d'une marge de sécurité de  $3 \log_{10}$ . Pour le CHIKV, au moins  $10,7 \log_{10}$  TCID<sub>50</sub>/mL sont nécessaires. Une capacité de réduction d'au moins  $3,7 \log_{10}$  TCID<sub>50</sub>/mL de la charge infectieuse (marge de sécurité incluse) devra permettre de réduire le WNV et le CHIKV après la phase de virémie.

## REFERENCES

- AFMPS. Agence Fédérale des Médicaments et des Produits de Santé. Réduction de pathogènes de concentrés plaquettaires. Circulaire n° 491. Bruxelles: AFMPS; 2009. [accessed 2009 November 20]. Available from: [http://www.fagg-afmps.be/fr/binaries/Circ%20491\\_tcm291-81203.pdf](http://www.fagg-afmps.be/fr/binaries/Circ%20491_tcm291-81203.pdf)
- AFMPS. Agence Fédérale des Médicaments et des Produits de Santé. WNV en Hongrie, Italie et Roumanie (complément de la note d'information du 23/08/2010) [Note d'information]. Bruxelles: AFMPS; 2010.
- AFMPS. Agence Fédérale des Médicaments et des Produits de Santé. Total de l'activité des Etablissements de transfusion de Belgique. Bruxelles: AFMPS; 2012. [accessed 2015 June 26]. Available from: [http://www.fagg-afmps.be/fr/binaries/Sang%202004%20-%202011\\_tcm291-73802.pdf](http://www.fagg-afmps.be/fr/binaries/Sang%202004%20-%202011_tcm291-73802.pdf)
- AFMPS. Agence Fédérale des Médicaments et des Produits de Santé. Hémovigilance en Belgique - Rapport annuel 2013. Bruxelles: AFMPS; 2015. [accessed 2015 June 26]. Available from: [http://www.fagg-afmps.be/fr/binaries/RAPPORT\\_ANNUEL\\_%202013\\_fr\\_Final\\_tcm291-267916.pdf](http://www.fagg-afmps.be/fr/binaries/RAPPORT_ANNUEL_%202013_fr_Final_tcm291-267916.pdf)
- Andonov A. Current relevance of arbovirus infections in transfusion medicine. ISBT Science Series 2010;5:101-6.
- Andrade CC, Maharaj PD, Reisen WK, et al. North American West Nile viral genotype isolates demonstrate differential replicative capacity in response to temperature. J Gen Virol 2011;92:2523-33.
- Añez G, Jiang Z, Heisey DAR, et al. Collaborative study for the characterization of a chikungunya virus RNA reference reagent for use in nucleic acid testing. Vox Sang 2015;109:312-8.
- Angelini MF, Fressy P, Rasonglès P. Epidémie de Chikungunya à la Réunion et transfusion sanguine. Le Bulletin de l'Hémovigilance de l'Afssaps 2006;13:9-10.
- ANSM. Agence nationale de sécurité des médicaments et des produits de santé. Compte-rendu de séance du 18/06/14. Comité technique d'hémovigilance – CT032014033. Saint-Denis: ANSM; 2014. [accessed 2014 Septembre 30]. Available from: [http://www.anism.sante.fr/var/ansm\\_site/storage/original/application/b12e3aab320d5838e3e908142e6d453d.pdf](http://www.anism.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/b12e3aab320d5838e3e908142e6d453d.pdf)
- Appassakij H, Khuntikij P, Kemapunmanus M, et al. Viremic profiles in asymptomatic and symptomatic chikungunya fever: a blood transfusion threat? Transfusion 2013;53:2567-74.
- Arellanos-Soto D, Cruz VBI, Mendoza-Tavera N, et al. Constant risk of dengue virus infection by blood transfusion in an endemic area in Mexico. Transf Med 2015;25:122-4.
- Artsob H, Gubler DJ, Enria DA, et al. West Nile Virus in the New World: Trends in the Spread and Proliferation of West Nile Virus in the Western Hemisphere. Zoonoses and Public Health 2009;56:357-69.

- Aytay S, Ohagen A, Busch MP, et al. Development of a sensitive PCR inhibition method to demonstrate HBV nucleic acid inactivation. *Transfusion* 2004;44:476-84.
- Baba M, Logue CH, Oderinde B, et al. Evidence of arbovirus co-infection in suspected febrile malaria and typhoid patients in Nigeria. *J Infect Dev Ctries* 2013;7:51-9.
- Bai F, Kong KF, Dai J, et al. A paradoxical role for neutrophils in the pathogenesis of West Nile virus. *J Inf Dis* 2010;202:1804-12.
- Beltrame A, Angheben A, Bisoffi Z, et al. Imported Chikungunya Infection, Italy. *Emerg Infect Dis* 2007;13:1264-6.
- Biggerstaff BJ, Petersen LR. Estimated risk of West Nile virus transmission through blood transfusion during an epidemic in Queens, New York City. *Transfusion* 2002;42:1019-26.
- Borgherini G, Poubeau P, Jossaume A, et al: Persistent arthralgia associated with chikungunya virus: A study of 88 adult patients on Reunion Island. *Clin Infect Dis* 2008;47:469-75.
- Brouard C, Bernillon P, Quatresous I, et al. Estimated risk of Chikungunya viremic blood donation during an epidemic on Reunion Island in the Indian Ocean, 2005 to 2007. *Transfusion* 2008;48:1333-41.
- Busch MP, Kleinman SH, Tobler LH, et al. Virus and antibody dynamics in acute West Nile virus infection. *J Infect Dis* 2008;198:984-93.
- Busch MP, Murthy KK, Kleinman SH, et al. Infectivity in chimpanzees (*Pan troglodytes*) of plasma collected before HCV RNA detectability by FDA-licensed assays: implications for transfusion safety and HCV infection outcomes. *Blood* 2012;119:6326-34.
- Busch MP. CHIKV Crash Lands in the Americas in 2014 – Blood Safety Implications and Actions [Présentation de diapositives]. Presented at the 22nd International Workshop on "Surveillance and Screening of Blood Borne Pathogens" of the International Plasma Fractionation Association/Paul-Ehrlich-Institut (IPFA/PEI); 2015 May 20-21; Prague, Czech Republic.
- Campbell GL, Mafin AA, Lanciotti RS, et al. West Nile virus. *Lancet Infect Dis* 2002;2 :519-29.
- Cancino-Faure B, Fisa R, Riera C, et al. Evidence of meaningful levels of *Trypanosoma cruzi* in platelet concentrates from seropositive blood donors. *Transfusion* 2015;55:1249-55.
- Carey DE. Chikungunya and dengue: a case of mistaken identity. *J Hist Med Allied Sci* 1971;26:243-62.
- Caridian. Mirasol Pathogen Reduction Technology: Proven effective against a broad range of disease-causing agents. [accessed 2010 Dec 15]. Available from: <http://www.caridianbct.com/location/emea/Documents/306690151A-web.pdf>, 2010
- Carletti F, Bordi L, Chiappini R, et al. Rapid Detection and Quantification of Chikungunya Virus by a One-Step Reverse Transcription–Polymerase Chain Reaction Real-Time Assay. *Am J Trop Med Hyg* 2007;77:521-4.
- Caron M, Paupy C, Grard G, et al. Recent introduction and rapid dissemination of Chikungunya virus and Dengue virus serotype 2 associated with human and mosquito coinfections in Gabon, central Africa. *Clin Infect Dis* 2012;55:e45-53.
- Cazenave J-P, Rasonglès P, Isola H, K et al. Photochemical Pathogen Inactivation for Preparation of Platelet Components During an Epidemic of Chikungunya Virus. Presented at the Annual Meeting of the American Association of Blood Banks (AABB); 2006 Oct 21-24; Miami Beach, Florida, USA. Available from: [http://www.interceptbloodsystem.com/poster\\_pdfs\\_2006/AABB-2006\\_Corash.pdf](http://www.interceptbloodsystem.com/poster_pdfs_2006/AABB-2006_Corash.pdf), 2006
- CDC. Centers for Disease Control and Prevention. Laboratory-acquired West Nile Virus infections – United States, 2002. *Morb Mortal Wkly Rep* 2002;51:1133-5.
- Cerus. Viruses tested using the INTERCEPT Blood System for platelets. [accessed 2010 Dec 15]. Available from: <http://www.interceptbloodsystem.com/resource-center/technical-data-sheets/intercept-blood-system-for-platelets/viruses.html>
- Charles PE, Zeller H, Bonnotte B, et al. Imported West Nile Virus Infection in Europe. *Emerg Infect Dis* 2003;9:750.

- Chernesky MA, Larke RPB. Contrasting effects of rabbit and human platelets on chikungunya virus infectivity. *Can J Microbiol* 1977;23:1237-44.
- Chiu CY, Bres V, Yu G, et al. Genomic Assays for Identification of Chikungunya Virus in Blood Donors, Puerto Rico, 2014. *Emerg Infect Dis* 2015;21:1409-13.
- Chusri S, Siripaitoon P, Silpapojakul K, et al. Kinetics of Chikungunya Infections during an outbreak in Southern Thailand, 2008-2009. *Am J Trop Med Hyg* 2014;90:410-7.
- Cordel H, Quatresous I, Paquet C, et al. Imported cases of chikungunya in metropolitan France, April 2005 - February 2006. *Euro Surveill* 2006;11:2944.
- CSS. Conseil Supérieur de la Santé. Avis concernant l'exclusion (temporaire) des donneurs de sang ayant voyagé à l'étranger. Avis n° 8307. Bruxelles: CSS; 2007.
- CSS. Conseil Supérieur de la Santé. Risque de transmission du virus Chikungunya à la population belge par transfusion sanguine ou transplantation. Avis n° 8201. Bruxelles: CSS; 2007b.
- CSS. Conseil Supérieur de la Santé. La réduction des pathogènes dans les concentrés plaquettaires. Avis n° 8390. Bruxelles: CSS; 2008.
- CSS. Conseil Supérieur de la Santé. Bonnes pratiques de transfusion à l'usage des hôpitaux. Avis n° 8381. Bruxelles: CSS; 2010.
- CSS. Conseil Supérieur de la Santé. Applicabilité des méthodes de détection de la contamination bactérienne dans les concentrés plaquettaires et intérêt pour la sécurité transfusionnelle. Avis n° 8670. Bruxelles: CSS; 2011.
- CSS. Conseil Supérieur de la Santé. L'efficacité clinique de la réduction des pathogènes en vue d'une implémentation pour les concentrés plaquettaires. Avis n° 8700. Bruxelles: CSS; 2011b.
- Custer B, Kamel H, Kiely NE, et al. Associations between West Nile virus infection and symptoms reported by blood donors identified through nucleic acid test screening. *Transfusion* 2009;49:278-88.
- Dichtelmüller HO, Biesert L, Fabbrizzi F, et al. Contribution to safety of immunoglobulin and albumin from virus partitioning and inactivation by cold ethanol fractionation: a data collection from Plasma Protein Therapeutics Association member companies. *Transfusion* 2011;51:51:1412-30.
- Dodd RY, Foster GA, Stramer SL. Keeping blood transfusion safe from West Nile virus: American Red Cross experience, 2003 to 2012. *Transfus Med Rev* 2015;29:153-61.
- Domanovic D, Giesecke J. How to define an area where transmission of arthropod-borne disease is occurring?. *Euro Surveill* 2012;17:20171.
- ECDC. European Centre for Disease Prevention and Control. Chikungunya in Italy. Stockholm: ECDC; 2007.
- ECDC. European Centre for Disease Prevention and Control. West Nile virus infection outbreak in humans in Central Macedonia, Greece: July–August 2010. Stockholm: ECDC; 2010.
- ECDC. European Centre for Disease Prevention and Control. Meeting report: Expert consultation on West Nile virus infection. Stockholm: ECDC; 2011.
- EDQM. Council of Europe. European Directorate for the Quality of Medicines & Health Care. Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components. 16<sup>th</sup> edition. Strasbourg: Council of Europe Publishing; 2011.
- Epstein J. Alternative strategies in assuring blood safety: An Overview. *Biologicals* 2010;38:31-5.
- Epstein JS, Vostal JG. FDA approach to evaluation of pathogen reduction technology. *Transfusion* 2003;43:1347-50.
- Farcet MR, Kindermann J, Modrof J, et al. Inactivation of hepatitis A variants during heat treatment (pasteurization) of human serum albumin. *Transfusion* 2012;52:181-7.
- Farshid M. Evaluation of Viral Clearance Studies [Présentation de diapositives]. In: Update on Implementation of Revised Guidance on Blood Donor Deferrals for Risk of CJD and vCJD. Meeting of the Transmissible Spongiform Encephalopathies Advisory Committee: June 26, 2002.

US Food and Drug Administration/Center for Biologics Evaluation and Research. [accessed 2012 Nov 23]. Available from [http://www.fda.gov/OHRMS/DOCKETS/ac/02/slides/3868S1\\_11.ppt](http://www.fda.gov/OHRMS/DOCKETS/ac/02/slides/3868S1_11.ppt)

- Farshid M, Taffs RE, Scott D, et al. The clearance of viruses and transmissible spongiform encephalopathy agents from biologicals. *Curr Opin Biotechnol* 2005;16:561-7.
- Flaujac C, Boukour S, Cramer-Borde E. Platelets and viruses: an ambivalent relationship. *Cell Mol Life Sci* 2010;67:545-56.
- Friedman LI, Stromberg RR. Viral inactivation and reduction in cellular blood products. *Rev Fr Transfus Hemobiol* 1993;36:83-91.
- Friedman LI, Stromberg RR, Wagner SJ. Reducing the infectivity of blood components - what we have learned. *Immun Invest* 1995;24:49-71.
- Gaibani P, Pierro AM, Cavrini F, et al. False-positive Transcription-Mediated Amplification assay detection of West Nile virus in blood from a patient with viremia caused by an Usutu virus infection. *J Clin Microbiol* 2010;48:3338-9.
- Gallian P, Vignoli C, Dombey AM, et al. Inactivation of a European strain of West Nile virus in single-donor platelet concentrate using the INTERCEPT blood system. *Vox Sang* 2006;91:345-7.
- Gallian P, de Lamballerie X, Salez N, et al. Prospective detection of Chikungunya virus in blood donors, Caribbean 2014. *Blood* 2014;123:3679-81.
- Garcia-Tapia D, Loiacono CM, Kleiboeker SB. Replication of West Nile virus in equine peripheral blood mononuclear cells. *Vet Immunol Immunopath* 2006;110:229-44.
- Gea-Banacloche et al. West Nile Virus: Pathogenesis and Therapeutic Options. *Ann Int Med* 2004;140:545-53.
- Gérardin P, Barau G, Michault A, et al. Multidisciplinary Prospective Study of Mother-to-Child Chikungunya Virus Infections on the Island of La Réunion. *PLoS Med* 2008;5(3):e60.
- Gibney KB, Fischer M, Prince HE, et al. Chikungunya fever in the United States: a fifteen year review of cases. *Clin Infect Dis* 2011;52:e121-6.
- Goodrich RP, Edrich RA, Goodrich LL, et al. The Antiviral and Antibacterial Properties of Riboflavin and Light: Applications To Blood Safety and Transfusion Medicine. Chapter 5. In: Silva E, Edwards AM, editors. *Flavins. Photochemistry and Photobiology*. Cambridge: RSC Publishing; 2006. p. 83-113.
- Goodrich RP, Custer B, Keil S, et al. Defining “adequate” pathogen reduction performance for transfused blood components. *Transfusion* 2010;50:1827-37.
- Goss C, Giardina P, Simon MS, et al. Increasing rate of babesiosis in transfused patients at a New York City hospital [abstract]. *Transfusion* 2012;52(Suppl.3):38A.
- Gould LH, Osman MS, Farnon EC, et al. An outbreak of yellow fever with concurrent chikungunya virus transmission in South Kordofan, Sudan, 2005. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2008;102:1247-54.
- Gould EA, Gallian P, De Lamballerie X, et al. First cases of autochthonous dengue fever and chikungunya fever in France: from bad dream to reality! *Clin Microbiol Infect* 2010;16:1702-4.
- Gray EB, Herwaldt BL, Babesiosis National Surveillance: Data Uniformity, Completeness, and Timeliness, 2011–2013. Presented at the Annual Conference of the Council of State and Territorial Epidemiologists (CSTE); 2015 Jun 14-18; Washington, USA. Available from: <https://cste.confex.com/cste/2015/webprogram/Paper4847.html>
- Halstead SB. Reappearance of Chikungunya, Formerly Called Dengue, in the Americas. *Emerg Infect Dis* 2015;21:557-61.
- Her Z, Malleret B, Chan M, et al. Active infection of human blood monocytes by Chikungunya virus triggers an innate immune response. *J Immunol* 2010;184:5903-13.
- Hernández-Triana LM, Jeffries CL, Mansfield KL, et al. Emergence of west nile virus lineage 2 in europe: a review on the introduction and spread of a mosquito-borne disease. *Front Public Health* 2014;2:271.

- Ho PS, Mary Mah Lee Ng MML, Justin Jang Hann Chu JJH. Establishment of one-step SYBR green-based real time-PCR assay for rapid detection and quantification of chikungunya virus infection. *Virology* 2010;7:13.
- Hoarau JJ, Jaffar Bandjee MC, Krejbich Trotot P, et al. Persistent chronic inflammation and infection by Chikungunya arthritogenic alphavirus in spite of a robust host immune response. *J Immunol* 2010;184:5914-27.
- ICH. International Conference on Harmonization. Viral Safety Evaluation of Biotechnology Products Derived from Cell Lines of Human or Animal Origin. Geneva: ICH; 1999. [accessed 2012 September 11]. Available from [http://www.ich.org/fileadmin/Public\\_Web\\_Site/ICH\\_Products/Guidelines/Quality/Q5A\\_R1/Step4/Q5A\\_R1\\_Guideline.pdf](http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q5A_R1/Step4/Q5A_R1_Guideline.pdf)
- INS. Instituto Nacional de Salud. Dirección de Vigilancia y Análisis del Riesgo en Salud Pública. Boletín epidemiológico semanal. Semana epidemiológica número 27 de 2015. Bogotá (Colombie): INS; 2015. [accessed 2015 July 23]. Available from <http://www.ins.gov.co/boletin-epidemiologico/Boletn%20Epidemiolgico/2015%20Boletin%20epidemiologico%20semana%2027.pdf>
- Irsch J, Lin L. Pathogen Inactivation of Platelet and Plasma Blood Components for Transfusion Using the INTERCEPT Blood System™. *Transfus Med Hemother* 2011;38:19-31.
- Jean CM, Honarmand S, Louie JK, et al. Risk factors for West Nile virus neuroinvasive disease, California, 2005. *Emerg Infect Dis* 2007;13:1918-20.
- Josseran L, Paquet C, Zehgnoun A, et al. Chikungunya disease outbreak, Reunion Island. *Emerg Infect Dis* 2006;12:1994-5.
- Jakubik JJ, Vicik SM, Tannatt MM, et al. West Nile Virus inactivation by the solvent/detergent steps of the second and third generation manufacturing processes for B-domain deleted recombinant factor VIII. *Haemophilia* 2004;10:69-74.
- Jungbauer C, Hourfarb MK, Stiasnyc K, et al. West Nile virus lineage 2 infection in a blood donor from Vienna, Austria, August 2014. *J Clin Virol* 2015;64:16-9.
- Kalawat U, Sharma KK, Reddy SG. Prevalence of dengue and chikungunya fever and their co-infection. *Indian J Pathol Microbiol* 2011;54:844-6.
- Kelly S, Te TN, Brown JA, et al. Fatal West Nile virus infection after probable transfusion-associated transmission--Colorado, 2012. *MMWR* 2013;62:622-4.
- Kilpatrick AM. Globalization, land use, and the invasion of West Nile virus. *Science* 2011;334:323-7.
- Kraemer MU, Sinka ME, Duda KA, et al. The global distribution of the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus*. *eLife* 2015;10.7554/eLife.08347.
- Kreil TR, Berting A, Kistner O, et al. West Nile virus and the safety of plasma derivatives: verification of high safety margins, and the validity of predictions based on model virus data. *Transfusion* 2003;43:1023-8.
- Kwon SY, Kim IS, Bae JE, et al. Pathogen inactivation efficacy of Mirasol PRT system and Intercept blood system for non-leucoreduced platelet-rich plasma-derived platelets suspended in plasma. *Vox Sang* 2014;107:254-60.
- Lai L, Lee TH, Tobler L, et al. Relative distribution of West Nile virus RNA in blood compartments: implications for blood donor nucleic acid amplification technology screening. *Transfusion* 2011;52:447-54.
- Lanciotti RS, Kerst AJ, Nasci RS, et al. Rapid detection of West Nile virus from human clinical specimens, field-collected mosquitoes, and avian samples by a TaqMan reverse transcriptase-PCR assay. *J Clin Microbiol* 2000;38:4066-71.
- Lanciotti RS, Kosoy OL, Laven JJ, et al. Chikungunya virus in US travelers returning from India, 2006. *Emerg Infect Dis* 2007;13:764-7.
- Lanteri MC, O'Brien KM, Purtha WE, et al. Tregs control the development of symptomatic West Nile virus infection in humans and mice. *J Clin Invest* 2009;119:3266-77.



- Lanteri MC, Lee TH, Wen L, et al. West Nile virus nucleic acid persistence in whole blood months after clearance in plasma: implication for transfusion and transplantation safety. *Transfusion* 2014;54:3232-41.
- Larke B, Wheelok F. Stabilization of Chikungunya virus infectivity by human blood platelets. *J Inf Dis* 1970;122:523-31.
- Lee TH, Stromberg RR, Henrard D, et al. Effect of platelet associated virus on assays of HIV-1 in plasma. *Science* 1993;262:1585-6.
- Lee TH, Stromberg RR, Heitman JW, et al. Distribution of HIV type 1 (HIV-1) in blood components: detection and significance of high levels of HIV-1 associated with platelets. *Transfusion* 1998;38:580-8.
- Leparc-Goffart I, Nougairede A, Cassadou S, et al. Chikungunya in the Americas. *Lancet* 2014;383:514.
- Leiby DA. Babesiosis and blood transfusion: flying under the radar. *Vox Sang* 2006;90:157-65.
- Leydold SM, Farcet MR, Kindermann J, et al. Chikungunya virus and the safety of plasma products. *Transfusion* 2012;52:2122-30.
- Lieshout-Krikke RW, Zaaijer HL, Prinsze FJ. The yield of temporary exclusion of blood donors, exposed to emerging infections abroad. *Vox Sang* 2013;104:12-8.
- Lin L, Hanson CV, Alter HJ, et al. Inactivation of viruses in platelet concentrates by photochemical treatment with amotosalen and long-wavelength ultraviolet light. *Transfusion* 2005;45:580-90.
- Lindsey NP, Staples JE, Lehman JA, et al. Medical risk factors for severe West Nile Virus disease, United States, 2008–2010. *Am J Trop Med Hyg* 2012;87:179-84.
- Liumbruno GM, Calteri D, Petropulacos K, et al. The Chikungunya epidemic in Italy and its repercussion on the blood system. *Blood Transfusion* 2008;6:199-210.
- Macedo de Oliveira A, Beecham BD, Montgomery SP, et al. West Nile virus blood transfusion-related infection despite nucleic acid testing. *Transfusion* 2004;44:1695-9.
- Maillou BM, López-Vélez R, Norman F, et al. Importation of West Nile Virus Infection from Nicaragua to Spain. *Emerg Infect Dis* 2008;14:1171-3.
- Mavalankar D, Shastri P, Bandyopadhyay T, et al. Increased mortality rate associated with chikungunya epidemic, Ahmedabad, India. *Emerg Infect Dis* 2008;14:412-5.
- Marschner S, Goodrich R. Pathogen Reduction Technology Treatment of Platelets, Plasma and Whole Blood Using Riboflavin and UV Light. *Transfus Med Hemother* 2011;38:8-18.
- Mather T, Takeda T, Tassello J, et al. West Nile virus in blood: stability, distribution, and susceptibility to PEN110 inactivation. *Transfusion* 2003;43:1029-37.
- Mohr H & Redecker-Klein A. Inactivation of pathogens in platelet concentrates by using a two-step procedure. *Vox Sang* 2003;84:96-104.
- Mohr H, Knüver-Hopf J, Gravemann U, et al. West Nile virus in plasma is highly sensitive to methylene blue-light treatment. *Transfusion* 2004;44:886-90.
- Mohr H, Gravemann U, Bayer A, et al. Sterilization of platelet concentrates at production scale by irradiation with short-wave ultraviolet light. *Transfusion* 2009;49:1956-63.
- Mohr H, Steil L, Gravemann U, T et al. A novel approach to pathogen reduction in platelet concentrates using short-wave ultraviolet light. *Transfusion* 2009b;49:2612-24.
- Moro , et al. Long-term chikungunya infection clinical manifestations after an outbreak in Italy: A prognostic cohort study. *J Infect* 2012;65:165-72.
- Mostashari F, Bunning ML, Kitsutani PT, et al. Epidemic West Nile encephalitis, New York, 1999: results of a household-based seroepidemiological survey. *Lancet* 2001;358:261-4.
- Müller TH, Montag T, Seltsam AW. Laboratory Evaluation of the Effectiveness of Pathogen Reduction Procedures for Bacteria. *Transfus Med Hemother* 2011;38:242-50.
- Murray KO, Walker C, Gould E. The virology, epidemiology, and clinical impact of West Nile virus: a decade of advancements in research since its introduction into the Western Hemisphere. *Epidemiol Infect* 2011;139:807-17.

- Myers RM, Carey DE. Concurrent isolation from patient of two arboviruses, Chikungunya and dengue type 2. *Science* 1967;157:1307-8.
- Nett RJ, Kuehnert MJ, Ison MG, et al. Current practices and evaluation of screening solid organ donors for West Nile virus. *Transpl Infect Dis* 2012;14:268-77.
- Ng LC, Lam S, Teo D. Epidemiology of dengue and chikungunya viruses and their potential impact on the blood supply. *ISBT Science Series* 2009;4:357-67.
- NHSBT. National Health Services Blood and Transplant. Safe supplies: completing the picture, annual review from the NHSBT and PHE epidemiology unit, 2012. London: NHSBT; 2013. [accessed 2015 June 13]. Available from <https://www.gov.uk/government/publications/safe-supplies-annual-review>
- Linke S, Ellerbrok H, Niedrig M, et al. Detection of West Nile virus lineages 1 and 2 by real-time PCR. *J Virol Methods* 2007;146:355-8.
- Odelola HA, Oduye O. West Nile virus infection of adult mice by oral route. *Arch Virol* 1977; 54:251-3.
- Panning M, Grywna K, van Elsbroeck M, et al. Chikungunya fever in travelers returning to Europe from the Indian Ocean Region, 2006. *Emerg Inf Dis* 2008;14:416-22.
- Parola P, de Lamballerie X, Jourdan J, et al. Novel chikungunya virus variant in travelers returning from Indian Ocean islands. *Emerg Inf Dis* 2006;12:1493-9.
- Pealer LN, Marfin AA, Petersen LR, et al. Transmission of West Nile virus through blood transfusion in the United States in 2002. *NEJM* 2003; 349:1236-45.
- Petersen LR, Busch MP. Transfusion-transmitted arboviruses. *Vox Sang* 2010;98:495-503.
- Petersen LR, Epstein JS. Chikungunya virus: new risk to transfusion safety in the Americas. *Transfusion* 2014;54:1911-5.
- Petersen LR, Stramer SL, Powers AM. Chikungunya virus: Possible impact on transfusion medicine. *Transfus Med Rev* 2010;24:15-21.
- Petersen LR, Brault AC, Nasci RS. West Nile Virus: Review of the Literature. *JAMA* 2013;310:308-15.
- Pfeleiderer C, Blümel J, Schmidt M, et al. West Nile Virus and Blood Product Safety in Germany. *J Med Virol* 2008;80:557–63.
- Pialoux G, Gaüzère BA, Jauréguiberry S, et al. Chikungunya, an epidemic arbovirolosis. *Lancet Infect Dis* 2007;7:319-27.
- Prick JJ, Kuipers S, Kuipers HD, et al. Opnieuw West-Nijlvirus in Nederland: een man met encefalitis na een reis in Canada. *Ned Tijdschr Geneesk* 2003;147:978-80.
- Prowse C. Kills 99% of known germs. *Transfusion* 2010;50:1636-9.
- Ramful D, Carbonnier M, Pasquet M, et al. Mother-to-Child Transmission of Chikungunya Virus Infection. *Pediatr Infect Dis J* 2007;26:811-5.
- Rasonglès P, Angelini-Tibert MF, Simon O, et al. Transfusion of platelet components prepared with photochemical pathogen inactivation treatment during Chikungunya virus epidemic in Ile de La Réunion. *Transfusion* 2009;49:1083-91.
- Raut CG, Rao NM, Sinha DP, et al. Chikungunya, Dengue, and Malaria Co-Infection after Travel to Nigeria, India. *Emerg Infect Dis* 2015;21:908-9.
- Reiter P. West Nile virus in Europe: understanding the present to gauge the future. *Euro Surveill* 2010;15:19508.
- Rey FA. Dengue virus: Two hosts, two structures. *Nature* 2013;497:443-4.
- Reusken CBEM, Bakker J, Reimerink JHJ, et al. Underdiagnosis of Chikungunya Virus Infections in Symptomatic Dutch Travelers Returning From the Indian Ocean Area. *J Travel Med* 2013;20:44-6.
- Rios M, Daniel S, Chancey C, et al. West Nile virus adheres to human red blood cells in whole blood. *Clin Infect Dis* 2007;45:181-6.
- Rios M, Daniel S, Dayton AI, et al. In vitro evaluation of the protective role of human antibodies to West Nile virus (WNV) produced during natural WNV infection. *J Infect Dis* 2008;198:1300-8.

- Robin S, Ramful D, Le Seach F, et al. Neurologic manifestations of pediatric Chikungunya infection. *J Child Neurol* 2008;23:1028-35.
- Robinson MC. An epidemic of virus disease in Southern Province, Tanganyika Territory, in 1952-53; I. Clinical features. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1955;49:28-32.
- Rock G. A comparison of methods of pathogen inactivation of FFP. *Vox Sang* 2011;100:169-78.
- Rossini G, Silvestri AR, Govoni M, et al. Photochemical inactivation of Chikungunya virus using the Mirasol Pathogen Reduction Technology (PRT) System in platelets [poster abstract]. *Vox Sang* 2011;101 (Suppl 1):185-6.
- Ruane PH, Edrich R, Gampp D, et al. Photochemical inactivation of selected viruses and bacteria in platelet concentrates using riboflavin and light. *Transfusion* 2004;44:877-85.
- Rudolph KE, Lessler J, Moloney RM, et al. Incubation Periods of Mosquito-Borne Viral Infections: A Systematic Review. *Am J Trop Med Hyg* 2014;90:882-91.
- Sagripanti J-L, Marschall H-J, Voss L, et al. Photochemical inactivation of alpha- and poxviruses. *Photochem Photobiol* 2011;87:1369-78.
- Salunkhe V, van der Meer PF, de Korte D, et al. Development of blood transfusion product pathogen reduction treatments: A review of methods, current applications and demands. *Transf Apheresis Sci* 2015;52:19-34.
- Santhosh SR, Parida MM, Dash PK, et al. Development and evaluation of SYBR Green I-based one-step real-time RT-PCR assay for detection and quantification of Chikungunya virus. *J Clin Virol* 2007;39:188-93.
- Samuel MA, Diamond MS. Pathogenesis of West Nile Virus infection: a balance between virulence, innate and adaptive immunity, and viral evasion. *J Virol* 2006;80:9349-60.
- Saswat T, Kumar A, Kumar S, et al. High rates of co-infection of Dengue and Chikungunya virus in Odisha and Maharashtra, India during 2013. *Infect Genet Evol* 2015;35:134-41.
- Sawyer L, Dupuis K. Inactivation of Chikungunya Virus in Plasma and Platelets Using Helinx™ Technology, as Utilized in the INTERCEPT Blood System™. Presented at the XXIX International Congress of the International Society of Blood Transfusion (ISBT); 2006 Sep 2-7; Cape Town, South Africa. Available from: [http://www.interceptbloodsystem.com/poster\\_pdfs\\_2006/ISBT-2006\\_Sawyer.pdf](http://www.interceptbloodsystem.com/poster_pdfs_2006/ISBT-2006_Sawyer.pdf)
- Sawyer L, Sampson-Johannes A, Dubensky T, et al. Inactivation of Chikungunya Virus in Plasma and Platelets Using the INTERCEPT Blood System. XVII Regional Congress of the International Society of Blood Transfusion (ISBT); 2007 Jun 23-27; Madrid, Spain. Available from: [http://www.interceptbloodsystem.com/poster\\_pdfs\\_2007/ISBT-2007\\_Sawyer\\_a.pdf](http://www.interceptbloodsystem.com/poster_pdfs_2007/ISBT-2007_Sawyer_a.pdf)
- Sawyer L, Higgs S, Tsetsarkin K, et al. Inactivation of Transfusion-Transmitted Vector Borne Pathogens. XIX Regional Congress of the International Society of Blood Transfusion (ISBT); 2009 Mar 21-25; Cairo, Egypt. Available from: [http://www.interceptbloodsystem.com/documents/ISBT\\_2009\\_Sawyer.pdf](http://www.interceptbloodsystem.com/documents/ISBT_2009_Sawyer.pdf)
- Schmidt M, Hourfar MK, Sireis W, et al. Evaluation of the effectiveness of a pathogen inactivation technology against clinically relevant transfusion-transmitted bacterial strains. *Transfusion* 2015;55: 2104-12.
- Seed CR. Risk reduction strategies for transfusion-transmissible arboviral infections. *ISBT Sci Series* 2014;9:268-75.
- Seltsam A, Müller TH. UVC Irradiation for Pathogen Reduction of Platelet Concentrates and Plasma. *Transfus Med Hemother* 2011;38:43-54.
- Semenza JC, Menne B. Climate change and infectious diseases in Europe. *Lancet Infect Dis* 2009;9:365-75.
- Sergon K, Yahaya AA, Brown J, et al. Seroprevalence of Chikungunya virus infection on Grande Comore Island, union of the Comoros, 2005. *Am J Trop Med Hyg* 2007;76:1189-93.
- Simon F, Parola P, Grandadam M, et al. Chikungunya infection: An emerging rheumatism among travelers returned from Indian Ocean islands. Report of 47 cases. *Medicine* 2007;86:123-37.

- Simon AY, Sutherland MR, Pryzdial ELG. Dengue virus binding and replication by platelets. *Blood* 2015;126:378-85.
- Simon F, Javelle E, Gasque P. Chikungunya virus infections. *NEJM* 2015;373:93-4.
- Singh SK, Unni SK. Chikungunya virus: host pathogen interaction. *Rev Med Virol* 2011;21:78-88.
- Shimasaki N, Kiyohara T, Totsuka A, et al. Inactivation of hepatitis A virus by heat and high hydrostatic pressure: variation among laboratory strains. *Vox Sang* 2009;96:14-9.
- Southam CM, Moore A. Induced virus infections in man by the Egypt isolates of West Nile virus. *Am J Trop Med Hyg* 1954;3:19-50.
- Staikowsky F, Talarmin F, Grivard P, S et al. Prospective study of Chikungunya virus acute infection in the Island of La Réunion during the 2005-2006 outbreak. *PLoS One* 2009;4(10):e7603.
- Staples JE, Breiman RF, Powers A. Chikungunya fever: an epidemiological review of a re-emerging infectious disease. *Clin Inf Dis* 2009;49:942-8.
- Störmer M, Brachert J, Gathof B, et al. Blood-Transfusion-Bacteria-Standards as a Tool for Development and Validation of Bacteria Screening Methods and Pathogen Reduction Technology in Platelet Concentrates [poster]. XXXI International Congress of the ISBT. Berlin, 26 June - 1 July 2010.
- Stramer SL, Fang CT, Foster GA, et al. West Nile virus among blood donors in the United States, 2003 and 2004. *N Engl J Med* 2005;353:451-9.
- Sutherland MR, Simon AY, Serrano K, et al. Dengue virus persists in stored platelets and red blood cells. *Transfus Med Rev* 2014;28:167.
- Tan LK, Lam S, Low SL, et al. Evaluation of Pathogen Reduction Systems to Inactivate Dengue and Chikungunya Viruses in Apheresis Platelets Suspended in Plasma. *Advances in Infectious Diseases* 2013;3:1-9.
- Tan KK, Sy AK, Tandoc AO, et al. Independent Emergence of the Cosmopolitan Asian Chikungunya Virus, Philippines 2012. *Sci Rep* 2015;5:12279.
- Terpstra FG, van 't Wout AB, Schuitemaker H, et al. Potential and limitation of UVC irradiation for the inactivation of pathogens in platelet concentrates. *Transfusion* 2008;48:304-13.
- Tobler LH, Bianco C, Glynn SA, et al. Detection of West Nile virus RNA and antibody in frozen plasma components from a voluntary market withdrawal during the 2002 peak epidemic. *Transfusion* 2005;45:480-6.
- Tobler LH, Cameron MJ, Lanteri MC, et al. Interferon and interferon-induced chemokine expression is associated with control of acute viremia in West Nile virus-infected blood donors. *J Infect Dis* 2008;198:979-83.
- Tsen S-WD, Kingsley DH, Kibler K, et al. Pathogen Reduction in Human Plasma Using an Ultrashort Pulsed Laser. *PLoS ONE* 2014;9(11):e111673.
- Tsetsarkin KA, Sampson-Johannes A, Sawyer L, et al. Photochemical inactivation of chikungunya virus in human apheresis platelet components by amotosalen and UVA light. *Am J Trop Med Hyg* 2013;88:1163-9.
- Van den Bossche D, Cnops L, Meersman K, et al. Chikungunya virus and West Nile virus infections imported into Belgium, 2007-2012. *Epidemiol Infect* 2015;143:2227-36.
- van der Meer PF, Dumont LJ, Lozano M, et al. Aggregates in platelet concentrates. *Vox Sanguinis* 2015;108:96-125.
- Vanlandingham DL, Keil SD, Horne KM, et al. Photochemical inactivation of chikungunya virus in plasma and platelets using the Mirasol pathogen reduction technology system. *Transfusion* 2013;53:284-90.
- Venter M, Swanepoel R. West Nile virus lineage 2 as a cause of zoonotic neurological disease in humans and horses in southern Africa. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2010;10:659-64.
- Weaver SC, Reisen WK. Present and future arboviral threats. *Antiviral Res* 2010;85:328-45.

- Weiss D, Carr D, Kellachan J, et al. Clinical findings of West Nile virus infection in hospitalized patients, New York and New Jersey, 2000. *Emerg Infect Dis* 2001;7:654-8.
- Win MK, Chow A, Dimatatac F, et al. Chikungunya fever in Singapore: acute clinical and laboratory features, and factors associated with persistent arthralgia. *J Clin Virol* 2010;49:111-4.
- Yap G, Pok K-Y, Lai Y-L, et al. Evaluation of Chikungunya diagnostic assays: differences in sensitivity of serology assays in two independent outbreaks. *PLoS Negl Trop Dis* 2010;4(7):e753.
- Yomtovian R, Jacobs MR. A prospective bonus of platelet storage additive solutions: a reduction in biofilm formation and improved bacterial detection during platelet storage. *Transfusion* 2010;50:2295-300.
- Yoon I, Maria Theresa Alera MT, Lago CB, et al. High Rate of subclinical Chikungunya virus infection and association of neutralizing antibody with protection in a prospective cohort in the Philippines. *PLoS Negl Trop Dis* 2105;9(5):e0003764.
- Zou S, Foster GA, Dodd RY, et al. West Nile fever characteristics among viremic persons identified through blood donor screening. *J Infect Dis* 2010;202:1354-61.

## COMPOSITION DU GROUPE DE TRAVAIL

La composition du Bureau et du Collège ainsi que la liste des experts nommés par arrêté royal se trouvent sur le site Internet du CSS (page : [composition et fonctionnement](#)).

Tous les experts ont participé **à titre personnel** au groupe de travail. Leurs déclarations générales d'intérêts ainsi que celles des membres du Bureau et du Collège sont consultables sur le site Internet du CSS (page : [conflits d'intérêts](#)).

Les experts suivants ont participé à l'élaboration et à l'approbation de l'avis. Le groupe de travail a été présidé par Mme Véronique DENEYS et le secrétariat scientifique a été assuré par Roland HÜBNER.

<b>ARIEN Kevin</b>	virologie	IMT Anvers
<b>BENOIT Yves</b>	hématologie oncologie pédiatrique	UGent
<b>BRUSSELMANS Koen</b>	sang et dérivés sanguins; biologie moléculaire et cellulaire	ISP
<b>DENEYS Véronique</b>	immuno-hématologie; transfusion	Etablissement de transfusion sanguine, UCL Mont-Godinne
<b>DE PAEP Rudi</b>	soins intensifs	UZA
<b>HÜBNER Roland</b>	biologie moléculaire et cellulaire; transfusion	CSS
<b>LATINNE Dominique</b>	biologie hématologique	UCL
<b>LOIX Sébastien</b>	anesthésiologie; soins intensifs	Hôpital Jolimont La Louvière
<b>PEERLINCK Kathelijne</b>	maladies de la coagulation et des vaisseaux sanguins	KUL
<b>SELLESLAG Dominik</b>	médecine interne; hématologie	AZBrugge
<b>SZABO Bertrand</b>	transfusion	Clinique Reine Astrid Malmédy
<b>THOMAS Isabelle</b>	virologie	ISP
<b>VAN DER LINDEN Philippe</b>	anesthésiologie	CHU Brugmann
<b>ZACHEE Pierre</b>	hématologie	ZNA

Les experts suivants ont été entendus mais n'ont pas participé à l'approbation de l'avis:

GOUBAU Patrick	virologie; médecine des voyages	UCL
LAMBERMONT Micheline	transfusion	Service du Sang, Croix Rouge de Belgique; ULB

Le représentant de l'administration suivante a été entendu:

MUYLLE Ludo	sang, tissus et cellules	AFMPS; UA; UZA
-------------	--------------------------	----------------