

# Prévalence du virus de l'hépatite G chez les donneurs de sang en Tunisie

M. Mastouri,<sup>1</sup> L. Safer,<sup>2</sup> B. Pozzetto,<sup>3</sup> T. Bourlet<sup>4</sup> et M. Khedher<sup>1</sup>

معدّل انتشار فيروس التهاب الكبد «جي» بين المتبرّعين بالدم في تونس

مها مستوري، ليلي سافر، برونو بوزيتو، توما بورليه، محمد خضر

**الخلاصة:** فيروس التهاب الكبد «جي» هو فيروس اكتُشف حديثاً، وتحدث الإصابة به في أي مكان بالعالم. ولم تسبق دراسة التهاب الكبد «جي» في تونس من قبل. وكان هدف الباحثين هو تقييم مدى انتشار عدوى التهاب الكبد «جي» لدى التونسيين المتبرّعين بالدم. وتم إجراء فحص لعدد 912 شخصاً من المتبرّعين بالدم بغرض الكشف عن وجود أضداد للبروتين الغلافي الثاني لفيروس التهاب الكبد «جي» باستخدام المقاييس الامتصاصية المناعية للإنزيم المرتبط. كما تم فحص 600 باستخدام المُنتسخة transriptase العكسية للتفاعل السلسلي لللمرة. وقد وجد الحمض النووي الريبي لفيروس التهاب الكبد «جي» لدى 5.3% من أفراد العيّنة، وأضداد فيروس التهاب الكبد «جي» لدى 4.9%. وقد لوحظ وجود ترابط بين عدوى التهاب الكبد «جي» وفيروس التهاب الكبد «سي»، ( $P = 0.006$ ). وأن معدل انتشار التهاب الكبد «جي» مشابه لما هو موجود في مناطق العالم الأخرى.

**RÉSUMÉ** Le GBV-C/HGV est un virus de découverte récente, répandu dans le monde. Aucune donnée n'est disponible sur la prévalence du GBV-C/HGV en Tunisie. Le but de notre étude était de déterminer la prévalence du GBV-C/HGV chez les donneurs de sang en Tunisie. La recherche de l'anticorps anti-E2 a été réalisée pour 912 donneurs de sang et la recherche de l'ARN par RT-PCR pour 600 donneurs. La prévalence des marqueurs de l'infection par le GBV-C/HGV était de 5,3 % pour l'ARNémie et de 4,9 % pour l'anti-E2. Une corrélation a été notée entre l'infection par le GBV-C/HGV et le VHC ( $p = 0,006$ ). La prévalence de l'infection par le GBV-C/HGV chez les donneurs de sang en Tunisie est comparable à celle rapportée dans le monde.

## Prevalence of hepatitis G virus among Tunisian blood donors

Hepatitis G virus (GBV-C/HGV) is a recently identified virus which occurs worldwide. The prevalence of GBV-C/HGV in Tunisia has not been previously studied. We aimed to assess the prevalence of GBV-C/HGV infection in Tunisian blood donors. A total of 912 blood donors were tested for anti-E2 antibodies of GBV-C/HGV by enzyme-linked immunosorbent assay and 600 were tested by reverse transcriptase polymerase chain reaction. GBV-C/HGV RNA was found in 5.3% of the sample and HGV antibodies occurred in 4.9%. A correlation was noticed between GBV-C/HGV infection and hepatitis C virus ( $P = 0.006$ ). The prevalence of GBV-C/HGV is similar to that reported worldwide.

<sup>1</sup> Faculté de pharmacie, Université de Monastir (Tunisie).

<sup>2</sup> Faculté de médecine, Université de Monastir (Tunisie).

<sup>3</sup> Faculté de médecine Jacques Lisfranc, Saint-Étienne (France).

<sup>4</sup> Laboratoire de virologie, Hôpital Nord, Saint-Étienne (France).

Reçu : 10/03/04 ; accepté : 27/09/04

## Introduction

Le GBV-C est un virus à ARN positif simple brin appartenant à la famille des *Flaviviridae*, décrit en 1995 par Simons *et al.* [1]. En 1996, l'équipe de Linnen *et al.* ont décrit un second virus appelé HGV qui s'est avéré être un variant du précédent [2]. C'est pourquoi cet agent est désormais désigné sous le nom de GBV-C/HGV. Souvent qualifié de virus d'hépatite, le GBV-C/HGV est un agent dont le pouvoir pathogène n'est pas clairement démontré. Les mécanismes de réplication sont encore mal connus car il n'existe pas de système de culture efficace [3]. Cependant, des travaux récents ont pu mettre en évidence des brins négatifs d'ARN du GBV-C/HGV dans les cellules mononucléées [3], mais aussi au niveau de la rate, de la moelle osseuse [4] et de l'appendice, suggérant que le GBV-C/HGV prolifère au niveau de l'appendice, puis il est transporté par voie portale jusqu'au foie [5]. Le GBV-C/HGV est loin de constituer un agent hépatotrope classique. Le mode de transmission du GBV-C/HGV est également l'objet de discussions : la transmission parentérale est bien avérée [6], la transmission materno-foetale est fréquente [7], la transmission sexuelle est bien avérée et joue un rôle important dans la dissémination du virus dans la population générale [8]. Le GBV-C/HGV est largement répandu dans le monde, notamment chez les donneurs de sang. Pour connaître sa prévalence dans une population, il faut tenir compte à la fois des porteurs du virus (ARN GBV-C/HGV positif) et de ceux qui ont développé une immunité protectrice (anticorps anti-E2 positifs). Aucune donnée n'est disponible sur la prévalence de l'infection par le virus GBV-C/HGV dans notre pays. Le but de notre travail était de déterminer la prévalence de l'infection par le GBV-C/HGV chez les donneurs de sang

en Tunisie (région de Monastir), de préciser les modes de transmission de l'infection dans cette population et d'établir la prévalence des co-infections par les virus VIH, VHB et/ou VHC chez les donneurs infectés par le GBV-C/HGV.

## Méthodes

### Donneurs

L'étude a porté sur 912 donneurs de sang (756 hommes et 156 femmes) de la banque de sang du C.H.U. Fattouma Bourguiba de Monastir, et ceci sur une période allant de janvier à décembre 2000. L'âge moyen des donneurs était de 27,2 ans avec des extrêmes allant de 18 à 58 ans. Aucun critère d'exclusion n'a été appliqué. Chaque donneur a reçu un questionnaire portant sur les antécédents d'affections hépatiques, d'interventions chirurgicales, de transfusion de sang, de scarification et/ou de tatouage. Pour chaque donneur de sang, nous avons prélevé sur tube sec 10 mL de sang total par ponction veineuse au pli du coude. Les tubes de sang ont été centrifugés 15 minutes à basse vitesse et le sérum a été réparti en 5 aliquotes de 0,5 mL à 1 mL et congelé dans les meilleurs délais à -80 °C.

### Détection des anticorps anti-E2

La détection des anticorps anti-E2 a été réalisée par une technique ELISA à l'aide d'un test commercial (*μPLATE anti-HGenv, Boehringer/Roche*).

### Détection de l'ARN du GBV-C/HGV par RT-PCR

La détection de l'ARN du GBV-C/HGV n'a concerné que 600 donneurs sans aucun biais de sélection et ceci par manque de réactif. La technique utilisée a été celle commercialisée par Boehringer/Roche ; l'ARN a été extrait à partir de 200 μL de sérum à

l'aide de la trousse *High Pure viral RNA Kit* selon les recommandations du fabricant. La RT-PCR en une seule étape a été réalisée à l'aide de la trousse *Titan one tube RT-PCR system*. Ce système permet la synthèse de l'ADNc en même temps que la PCR sans avoir recours à l'addition de réactifs entre la synthèse de l'ADNc et la PCR. On utilise, pour la transcription inverse, l'enzyme de *l'Avian Myeloblastosis Virus* (AMV) et pour la PCR, *l'expand high fidelity enzyme* qui consiste en une Taq ADN polymérase et une Pwo ADN polymérase (polymérase thermostable isolée de *archaebacterium Pyrococcus woesei*). Ces enzymes sont contenues dans un seul mélange réactionnel (Enzyme Mix de la trousse *Titan one tube RT-PCR*). La PCR a été réalisée à l'aide d'amorces situées dans la région 5' non codante du génome viral : amorce 1 : 5'-CGGCCAAAAGGTGGATG-3' et amorce 2 : 5'-CGACGAGCCTGACGTCGGG-3' (*Hepatitis G virus-primer and capture Probe set, 2nd generation*) et des dNTP de la trousse (*PCR ELISA Dig labling Mix*) permettant un marquage à la digoxigénine du matériel amplifié. L'amplification a été réalisée à l'aide d'un thermocycleur Perkin Elmer 9600 selon le protocole suivant : une transcription inverse pendant 30 min à 50 °C suivie d'une dénaturation des hybrides pendant 2 mn à 94 °C, puis 10 cycles comportant chacun 30 s à 94 °C, 30 s à 55 °C et 30 s à 68 °C, ensuite 30 cycles comportant chacun 30 s à 94 °C, 30 s à 55 °C et 30 s à 68 °C plus 5 s par cycle. Enfin une étape d'élongation finale de 8 mn à 68 °C. Les amplifiats ont été révélés par une technique ELISA (*PCR ELISA DIG detection*) utilisant une sonde biotinylée spécifique de la région amplifiée 5'-BIO-TIN-GGTAGCCACTATAGGG-3' (*Hepatitis G virus-primer and capture Probe set, 2nd generation*). La sonde biotinylée a été immobilisée au fond des puits d'une

microplaque recouverte de streptavidine ; le produit d'amplification marqué à la digoxigénine a été révélé grâce à un anticorps anti-digoxigénine marqué à la peroxydase.

### Autres techniques

Les anticorps anti-VIH, anti-VHC et l'antigène HBs ont été recherchés par des techniques ELISA (*Genscreen plus HIV Ag-Ab*, Biorad, France, *Innotest HCV Ab IV*, Innogenics, Belgique et *BIOELISA HBS Ag colour*, biokit, Espagne, respectivement). La sérologie de la syphilis a été réalisée par technique d'hémagglutination TPHA (*Syphagen*, biokit, Espagne) avec les réactifs commerciaux utilisés en routine dans le cadre de la qualification des dons de sang.

De même ont été effectués en routine des dosages systématiques des transaminases (ASAT et ALAT).

### Analyse statistique

L'étude statistique a été effectuée au moyen du logiciel Epi Info 6 version 6.02. La comparaison des fréquences a été réalisée en se basant sur le test  $\chi^2$ , ou le test Fischer exact au seuil de 5 %.

### Résultats

Parmi les 912 donneurs de sang, 45 étaient séropositifs, soit une prévalence de 4,9 %. La différence de distribution des anticorps anti-E2 en fonction de l'âge était statistiquement significative ( $p = 0,0003$ ). La prévalence du portage sérique de l'ARN du GBV-C/HGV chez les donneurs de sang était de 5,3 %. Les tableaux 1 et 2 donnent la répartition par tranche d'âge des marqueurs de l'infection par le GBV-C/HGV.

Si on tient compte uniquement des 600 donneurs de sang qui sont analysés à la fois pour la recherche des anticorps anti-E2 et de l'ARN du GBV-C/HGV, la prévalence des

**Tableau 1 Prévalence des anticorps anti-E2 par tranche d'âge chez les donneurs de sang dans la région de Monastir (Tunisie)**

Tranche d'âge (ans)	Effectif	Anti-E2 +	
		Nbre	%
18-25	509	14	2,7
26-30	138	4	2,9
31-35	91	9	9,9
36-40	91	6	6,6
41-45	48	6	12,5
46-50	29	4	13,8
51-55	3	1	-
> 55	3	1	-
Total	912	45	4,9

$p = 0,0003$ .

anti-E2 est de 5,5 % (33/600), et on aboutit ainsi à une positivité des marqueurs de l'infection par le GBV-C/HGV de 10,8 %. Aucun donneur n'est trouvé virémique pour le GBV-C/HGV (ARN positif) et en même temps porteur des anticorps anti-E2 (témoin de guérison).

**Tableau 2 Prévalence de l'acide ribonucléique (ARN) du GBV-C/HGV par tranche d'âge chez les donneurs de sang dans la région de Monastir (Tunisie)**

Tranche d'âge (ans)	Effectif	ARN +	
		Nbre	%
18-25	333	17	5,1
26-30	98	7	7,1
31-35	61	5	8,2
36-40	58	2	3,4
41-45	30	0	0
46-50	19	1	5,2
51-55	1	0	0
> 55	0	0	0
Total	912	32	5,3

$p : NS$  (différence non significative).

L'étude des différents facteurs de risque n'a pas montré de liaison statistiquement significative avec les marqueurs de l'infection par le GBV-C/HGV. Le tableau 3 illustre la relation entre les marqueurs de l'infection par le GBV-C/HGV (donneurs anti-E2 positifs : infection guérie et donneurs ARN positifs : infection active) et les différents facteurs de risque.

L'étude des co-infections GBV-C/HGV avec les virus VHC, VIH, VHB, ou avec la syphilis a montré un lien statistiquement significatif entre l'infection par le GBV-C/HGV et le virus de l'hépatite C :  $p = 0,006$  (Tableau 4).

## Discussion

La séroprévalence du virus GBV-C/HGV chez les donneurs de sang en Tunisie (région du centre) atteint 4,9 %. La prévalence sérique de l'infection par le GBV-C/HGV varie beaucoup d'un pays à l'autre. En effet, elle est de 9,5 % [9] à 12 % [10] en France, 12,6 % en Italie [11], 15,9 % en Allemagne [12], 10,5 % en Norvège [13], 7,3 % au Canada [14] et 9 % aux États-Unis [15]. L'approche moléculaire, c'est-à-dire la recherche de l'ARN du virus du GBV-C/HGV par RT-PCR, a montré une prévalence de 5,3 %. Si nous prenons en compte les 600 donneurs de sang testés à la fois par RT-PCR et par sérologie, nous aboutissons à une prévalence globale de 10,8 %. Cette prévalence se rapproche de celle trouvée en France [9].

De même les résultats trouvés par biologie moléculaire sont variables d'un pays à l'autre. La prévalence est de 2,6 à 3,4 % en France [9,10], de 12,2 % en Égypte [16], de 1,9 % en Allemagne [12], de 1,1 % au Canada [14], de 2 % aux États-Unis [15], de 1,8 % en Corée [17], de 9,7 % au Brésil [18], de 2,5 % en Norvège [13], de 2,1 % à

Tableau 3 Étude des facteurs de risque de l'infection par le GBV-C/HGV chez les donneurs de sang dans la région de Monastir (Tunisie)

Facteur		ARN + Nbre	ARN - Nbre	p	Anti-E2 + Nbre	Anti-E2 - Nbre	p
Ictère	+	1	7	0,35	0	8	1
	-	31	560		45	859	
Soins dentaires	+	9	182	0,63	20	369	0,80
	-	23	385		25	498	
Interventions chirurgicales	+	1	40	0,71	0	44	0,16
	-	31	527		45	823	
Scarification/ tatouage	+	4	48	0,51	6	97	0,65
	-	28	519		39	770	
Transfusion	+	0	5	1	0	5	1
	-	32	563		45	862	
ALAT	≥ 35 UI/L	0	14	1	4	51	0,32
	< 35 UI/L	29	453		33	694	
ASAT	≥ 35 UI/L	5	41	0,16	0	18	1
	< 35 UI/L	24	442		38	713	

ALAT : alanine-aminotransférase.

ASAT : aspartate-aminotransférase.

Tableau 4 Prévalence des co-infections GBV-C/HGV avec les virus VHB, VHC, VIH et la syphilis chez les donneurs de sang (n = 600) dans la région de Monastir (Tunisie)

Co-infection		ARN +		ARN -		p
		Nbre	%	Nbre	%	
VHB	+	0	0	19	3,2	0,61
	-	32	5,3	549	91,5	
VHC	+	3	0,5	5	0,8	0,006
	-	29	4,8	563	93,8	
VIH	+	0	0	1	0,2	1
	-	32	5,3	567	94,5	
<i>Treponema pallidum</i>	+	0	0	2	0,4	1
	-	32	5,3	566	94,3	

VHB : virus de l'hépatite B.

VHC : virus de l'hépatite C.

VIH : virus de l'immunodéficience humaine.

Taiwan [19], et de 0,5 % au Japon [20]. La technique de recherche de l'ARN du GBV-C/HGV utilisée a été la même, c'est-à-dire une transcriptase inverse, suivie d'une PCR, utilisant des amorces dans la région 5' non codante qui est une technique plus sensible et plus spécifique que l'amplification dans d'autres régions du génome du GBV-C/HGV : NS3, E2 [21].

Nous notons que la présence d'anticorps anti-E2 augmente avec l'âge pour atteindre 13,8 % à 55 ans. La différence de distribution en fonction de l'âge de ces anticorps est statistiquement significative ( $p = 0,0003$ ).

L'étude des co-infections avec d'autres virus a montré une liaison statistiquement significative entre l'infection par le virus de l'hépatite C et l'infection par le GBV-C/HGV ( $p = 0,006$ ). Ceci peut s'expliquer par un mode de transmission concomitant du virus de l'hépatite G avec le virus de l'hépatite C. En effet, de nombreux auteurs font état d'une forte prévalence de l'infection au GBV-C/HGV chez les sujets HCV positifs : 16,3 % en Italie [22] et 20 % aux États-Unis [2]. Par ailleurs, le GBV-C/HGV ne constitue pas un facteur aggravant de l'infection par le VHC [23], alors que l'examen des conséquences de la co-infection VIH et GBV-C/HGV a montré que la présence du GBV-C/HGV pourrait avoir un effet bénéfique sur l'évolution de l'infection par le VIH. En effet, l'infection par le GBV-C/HGV est associée à une inhibition de la réplication du VIH, ou pourrait être également un marqueur de la présence d'autres facteurs conduisant à une réponse favorable au VIH [24,25].

L'étude des différents facteurs de risque n'a pas montré de lien statistique entre les antécédents d'affections hépatiques, d'interventions chirurgicales, de transfusion de sang, de scarification et/ou tatouage et les marqueurs de l'infection par le GBV-C/HGV. L'infection par le virus de l'hépatite G ne semble pas induire une augmentation des taux de transaminases. En effet, il n'y a pas de liaison statistiquement significative entre l'augmentation des transaminases et l'infection par le GBV-C/HGV. Il a été rapporté dans la littérature que si l'infection par le GBV-C/HGV pouvait être associée à des élévations des taux de transaminases sériques, cette augmentation serait modérée, souvent transitoire et non toujours corrélée avec les pics de virémie [26]. En effet, le GBV-C/HGV ne constitue pas un agent hépatotrope classique, et la multiplication du virus se fait essentiellement dans les cellules mononuclées et non dans les hépatocytes [3] de sorte que sa classification comme « virus d'hépatite » pourrait bien avoir été quelque peu prématurée [27].

Enfin, la forte prévalence de l'infection par le GBV-C/HGV chez les donneurs de sang en Tunisie (10,8 %) révèle, outre le partage des mêmes voies de transmission que le VHC, une transmission par voie sexuelle. En effet, en dehors de la transmission parentérale du virus, la transmission verticale et la transmission sexuelle constituent les principales voies de transmission du virus dans la population générale [8,28].

## Références

1. Simons JN et al. Isolation of a novel virus-like sequences associated with human hepatitis. *Nature medicine*, 1995, 1(6): 564-9.
2. Linnen J et al. Molecular cloning and disease association of hepatitis G virus a transfusion-transmissible agent. *Science*, 1996, 271:505-8.

3. Fogeda M et al. *In vitro* infection of human peripheral blood mononuclear cells by GB virus C/hepatitis G virus. *Journal of virology*, 1999, 73(5):4052–61.
4. Radkowski M et al. Detection of active hepatitis C virus and hepatitis G virus/GB virus C replication in bone marrow in human subjects. *Blood*, 2000, 95(12):3986–9.
5. Shimizu T, Moriyama M, Arakawa Y. Detection of HGV RNA in digestive organs. *Intervirology*, 2001, 44(1):14–20.
6. Lefrere JJ, Loiseau P, Pawlotsky JM. Le virus G/BV-C: de l'hépatologie à l'hématologie. *Hématologie*, 1996, 2:544.
7. Fischler B et al. Genetic Evidence for mother-to-infant transmission of hepatitis G virus. *Journal of infectious diseases*, 1997, 176:281–5.
8. Seifried C et al. High prevalence of GBV-C/HGV among relatives of GBV-C/HGV-positive blood donors in blood recipients and in patients with aplastic anemia. *Transfusion*, 2004, 44(2):268–74.
9. Mercier B et al. Prevalence of GBV-C/HGV RNA and GBV-C/HGV antibodies in French volunteer blood donors: results of a collaborative study. *Vox sanguinis*, 1999, 76(3):166–9.
10. Cantaloube JF et al. Prevalence of GB virus type C/hepatitis G virus RNA and anti-E2 among blood donors in south-eastern France. *Transfusion*, 1999, 39(1):95–102.
11. Villari P et al. Antibodies to the E2 protein of GB virus C/hepatitis G virus : prevalence and risk factors in different populations in Italy. *Infection*, 2001, 29(1):17–23.
12. Feucht HH et al. Distribution of hepatitis G viremia and antibody response to recombinant proteins with special regard to risk factors in 709 patients. *Hepatology*, 1997, 26(2):491–4.
13. Nordbo SA et al. Prevalence of GB virus C (also called hepatitis G virus) markers in Norwegian blood donors. *Journal of clinical microbiology*, 2000, 38(7):2584–90.
14. Giulivi A et al. Prevalence of GBV-C/hepatitis G virus viremia and anti-E2 in Canadian blood donors. *Vox sanguinis*, 2000, 79(4):201–5.
15. Handa A et al. GB virus C/hepatitis G virus infection is frequent in American children and young adults. *Clinical infectious diseases*, 2000, 30(3):569–71.
16. El-Zayadi AR et al. Prevalence of GBV-C/hepatitis G virus viraemia among blood donors, health care personnel, chronic non-B non-C hepatitis, chronic hepatitis C and hemodialysis patients in Egypt. *Journal of virological methods*, 1999, 80(1):53–8.
17. Jeon MJ et al. TT virus and hepatitis G virus infections in Korean blood donors and patients with chronic liver disease. *World journal of gastroenterology*, 2003, 9(4):741–4.
18. Levi JE et al. High prevalence of GB virus C/hepatitis G virus RNA among Brazilian blood donors. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, 2003, 45(2):75–8.
19. Wang JT et al. Prevalence and infectivity of hepatitis G virus and its strain variant, the GB agent, in volunteer blood donors in Taiwan. *Transfusion*, 1998, 38(3):290–5.
20. Orito E et al. GB virus C/hepatitis G virus infection among Japanese patients with chronic liver diseases and blood donors. *Virus research*, 1996, 46(2):89–93.
21. Kao JH et al. Amplification of GB virus-C/hepatitis G virus RNA with primers from different regions of the viral genome. *Journal of medical virology*, 1997, 51(4):284–9.

22. Fabris P et al. HGV/GBV-C infection in patients with acute hepatitis of different etiology and in patients with chronic hepatitis C. *Journal of gastroenterology*, 1998, 33(1):57-61.
23. Cacopardo B et al. Influence of hepatitis G virus coinfection on the clinical course of chronic hepatitis C. *European journal of clinical microbiology and infectious disease*, 1998, 17(10):709-14.
24. Tillmann HL et al. Infection with GB virus C and reduced mortality among HIV-infected patients. *New England journal of medicine*, 2001, 345(10):715-24.
25. Xiang J et al. Effect of coinfection with GB virus C on survival among patients with HIV infection. *New England journal of medicine*, 2001, 345(10):707-14.
26. Sarrazin C et al. Prevalence and clinical and histological manifestation of hepatitis G/GBV-C infections in patients with elevated aminotransferases of unknown aetiology. *Journal of hepatology*, 1977, 27(2):276-83.
27. Pessoa MG et al. Quantitation of hepatitis G and C viruses in the liver: evidence that hepatitis G virus is not hepatotropic. *Hepatology*, 1998, 27(3):877-80.
28. Hattori J et al. Prevalence of infection and genotypes of GBV-C/HGV among homosexual men. *Microbiology and immunology*, 2003, 47(10):759-63.

### **Le sang qui convient au bon moment**

Les efforts engagés partout dans le monde pour garantir un accès universel à un sang sécurisé portent principalement sur l'établissement d'un réseau de donateurs volontaires, non rémunérés et réguliers. Jugés comme les plus sûrs, les donateurs de ce type ont aussi fait preuve d'un grand sens des responsabilités envers leur communauté et se sont maintenus, autant qu'ils le pouvaient, en bonne santé, pour rester en mesure de fournir un sang non contaminé.

Source : OMS Aide-mémoire N°279  
Révisé en juin 2005