

## **L**e « nouveau » virus transmissible par transfusion (TTV/VTT) est-il hépatotrope... ou même pathogène ?

En 1997, le groupe de chercheurs japonais de Nishizawa *et al.* (Tochigi-Ken) [1] a identifié un nouveau virus à ADN dans le sérum de patients ayant présenté une hépatite post-transfusionnelle. Ce virus a été désigné par le sigle TTV pour *transfusion-transmitted virus*, ce qui, francisé, deviendrait : VTT !

Le génome du virus a été obtenu par une méthode de PCR soustractive appelée RDA (*representational difference analysis*); cette technique très performante a permis ces dernières années la découverte de « nouveaux » virus comme l'herpès virus humain de type 8 (HHV-8) (*m/s* 1995, n° 6, p. 914) ou le virus de l'hépatite G (HGV/GBV-C).

### **Le virus TTV, un nouveau parvovirus humain ?**

C'est un virus non enveloppé à ADN simple brin d'environ 3 740 bases dont la densité est comprise entre 1,26 et 1,35 g/cm<sup>3</sup> [1, 3]. Il est apparenté à la famille des *Parvoviridae*, mais n'a pas d'analogie de séquence d'acides aminés avec les autres parvovirus connus [1, 4] notamment avec le parvovirus humain B19 identifié en 1975 [5].

On distingue pour ce virus actuellement trois génotypes à partir des séquences génomiques (types 1, 2 et 3) avec des sous-types 1a-1b, 2a-2b, 2c, mais nous en sommes seulement au début de l'étude des types et sous-types. Le génotype 1 semble le plus fréquent au Japon et au Royaume-Uni.

Les différences nucléotidiques entre les types 1 et 2 seraient de 30 % ; le génotype 2a serait très inhomogène. Pour certains, le TTV serait plus sensible à l'inactivation que les autres virus nus à ADN tels que le parvovi-

rus B19, mais l'efficacité du traitement solvant/détergent utilisé pour inactiver le parvovirus B19 [6] est discutée par Simmonds (Édimbourg, GB) [7] pour le VTT.

### **Le diagnostic virologique n'en est qu'à ses débuts**

Actuellement le diagnostic est un diagnostic direct reposant sur la recherche sur sérum ou plasma [1, 3, 4, 7, 8] voire dans les selles [3] du génome par PCR nichée ou semi-nichée, en amplifiant environ 300 pb choisies dans les zones conservées entre les variants les plus divergents actuellement connus.

Selon Simmonds, la virémie quantitative se situe entre 50 et 50 000 copies ADN/ml (moyenne géométrique 620) [7].

On ne dispose pas à ce jour de test sérologique permettant un diagnostic indirect, mais un diagnostic par recherche d'anticorps est envisageable, et des tests immuno-enzymatiques (ELISA) notamment IgG et IgM sont en développement dans des laboratoires de recherche ; encore faut-il que les anticorps soient contemporains de la virémie et qu'ils ne soient pas seulement les stigmates d'une infection ancienne.

### **Un virus largement répandu à transmission parentérale et probablement orofécale**

Les premières détections de virus ont été réalisées à partir de plasma de patients ayant présenté une hépatite post-transfusionnelles, la virémie coïncidant avec une augmentation modérée de la concentration des transaminases (ALAT).

Les enquêtes récentes encore très fragmentaires reposent uniquement

sur la recherche de génome dans le sang par PCR. Le virus est largement distribué dans la population générale, la prévalence de la virémie est inquiétante chez les donneurs de sang en Écosse (1,9 %) [7] ; elle serait encore plus élevée dans le groupe témoin (personnel médical et paramédical) de l'étude de Naoumov en Angleterre (10 %) [8] ou chez les donneurs de sang japonais (11,7 %) [4]. Si la transmission parentérale (transfusion, fraction coagulante...) est certaine, une transmission non parentérale est apparue très vite plus que probable puisque dans l'étude de Simmonds [7], la moyenne d'âge des sujets virémiques pour le TTV est de 53 ans, contre 32 ans pour les virus à transmission parentérale tels que le VHC... ou 36 ans pour le GBV-C/VHG.

Si on retrouve chez la majorité des virémiques des antécédents d'exposition au sang, il faut noter que dans la série de Naoumov [7], 38 % des infections seraient d'origine communautaire.

Les arguments indirects de transmission communautaire viennent d'être confirmés récemment par la publication d'Okamoto *et al.* [3]. Recherchant le génome du TTV dans les selles de patients virémiques, ils ont retrouvé le virus dans les fèces de 3 patients sur 5 avec une densité mesurée par centrifugation en chlorure de césium (CsCl) plus élevée dans les selles (1,35 g/cm<sup>3</sup>) que dans les sérums (1,31-1,32 g/cm<sup>3</sup>).

Le mode de transmission parentérale n'est pas exclusif parmi les *Parvoviridae* ; ainsi, des parvovirus félins et le virus entérique du vison sont retrouvés dans les selles et peuvent être transmis sur le mode fécal-oral [9] ; en revanche, le parvovirus humain B19 n'est pas excrété dans les selles [10].

Les études réalisées en Europe n'ont pas porté sur des polytransfusés, mais les travaux de Simmonds *et al.* [7] montrent que chez les sujets souffrant de troubles de la coagulation traités avant 1986, donc avant la mise en place d'étapes d'inactivation virale des fractions coagulantes, la virémie est très fréquente : hémophilie A (28,8 %), hémophilie B (31,2 %), maladie de von Willebrand (11 %). La virémie, pour les sujets ayant reçu des traitements avant 1986, est liée à la gravité de l'hémophilie. Le génome du TTV est retrouvé dans les facteurs VIII ou IX non traités dans 75 % des cas et, traités, dans 36,4 % des cas. Au Japon, 40 % des toxicomanes et 45,6 % voire même 67,9 % des hémophiles seraient virémiques [4] ; dans l'étude de Sumazaki *et al.*, une virémie serait retrouvée chez 78 % des hémophiles ayant reçu des produits non viro-inactivés contre 23 % chez les témoins appariés [11]. Le virus a été déjà signalé au Japon, en Europe, aux États-Unis, en Thaïlande et en Nouvelle-Zélande, il est très probablement largement distribué à la surface de la planète.

### **Le TTV a un pouvoir pathogène qui demande à être confirmé**

Le pouvoir pathogène actuellement soupçonné serait essentiellement hépatique.

Les études initiales de Nishizawa *et al.* [1] laissaient penser que les receveurs de sang contaminés par le TTV présentaient une virémie transitoire. L'étude de Simmonds [7] est au contraire en faveur d'une virémie prolongée, puisque celle-ci est retrouvée dans une proportion non négligeable de sujets ayant reçu des concentrés suspects plus de 10 ans auparavant... Tous ces éléments sont en faveur d'une persistance prolongée du virus dans l'organisme, mais cette constatation n'est pas forcément corrélée à une affection chronique. L'implication du TTV dans les hépatites post-transfusionnelles, argumentée initialement sur une association virémie-transaminases élevées [1], est discutée par Simmonds *et al.* [7] devant l'absence de symptômes chez les receveurs de sang et la rareté des

hépatites post-transfusionnelles, sans aucune mesure avec la fréquence de la virémie qui existerait dans la population générale, notamment chez les donneurs de sang (de l'ordre de 2 % à 10 %).

Cela n'exclut pas de possibles hépatites dues au TTV ou à l'un de ses variants chez des sujets présentant une susceptibilité particulière à ce virus.

Les travaux de Naoumov *et al.* [8] vont dans le même sens puisque, pour ces auteurs, 58 % des sujets présentant une virémie TTV ont des fonctions hépatiques normales ; de plus, 71 % des sujets qui ont subi une biopsie hépatique ne présentent pas de lésions hépatiques significatives.

La prévalence de la virémie est très élevée au Japon dans les hépatites fulminantes non A-G ou chroniques cryptogénétiques (46-47 %) ; elle est plus modérée en Europe dans les hépatites fulminantes 19 % [7], dans les maladies hépatiques chroniques dans leur ensemble, notamment B ou C (environ 20 %) et non B non C (38 %) selon Naoumov *et al.* [8]. En France, les données préliminaires dues à Tuveri *et al.* [12] font état d'une virémie plus faible de 0 % dans les hépatites fulminantes, 8 % dans les hépatites non B-non C, 11 % dans les hépatites post-transfusionnelles, alors que la fréquence de la virémie chez les donneurs de sang est de 1,5 %. Mais les auteurs des études les plus récentes s'accordent à reconnaître que le pouvoir pathogène du TTV, notamment hépatique, n'est pas confirmé [6, 7].

### **Le TTV pur fruit de la biologie moléculaire : Killer or curiosity ?**

Au total, un nouveau groupe de virus apparenté à la famille des *Parvoviridae* désigné par le sigle TTV a été découvert en 1997. Ce virus est largement répandu dans la population générale, virémique dans une proportion voisine de 2 % à 10 % ; il est transmissible par le sang et les produits dérivés (surtout non traités), mais n'est pas strictement à transmission parentérale ce qui doit faire revoir le sigle le désignant. Il peut aussi être transmis sur le mode communautaire, la preuve d'un risque de transmission fécale-orale venant d'être apportée très récemment.

Les sujets ayant reçu des produits sanguins et dérivés sont fréquemment virémiques surtout lorsque ces sujets souffrent d'une hémophilie sévère A ou B et qu'ils ont été traités avec des produits non viro-inactivés. Selon Polywka *et al.* [13], la transmission mère-enfant à partir d'une mère virémique est très fréquente puisque retrouvée chez 95,6 % des nés. Au Japon, la fréquence de la virémie croît avec l'âge, relativement « faible » chez les enfants de moins de 2 ans (8,3 %), elle atteint 33,3 % chez les plus de 45 ans [14].

Le pouvoir pathogène, notamment l'hépatovirulence du virus tant dans les hépatites aiguës, fulminantes que chroniques, n'est pas clairement démontré à ce jour et les virologues quelque peu « échaudés » par la saga du virus de l'hépatite G [15] hésitent avant d'attribuer un rôle hépatotrope au TTV [8, 16, 17]. Malgré cette méfiance, des précautions s'imposent avant d'exclure une nécessité de dépistage chez les donneurs de sang, mais aussi une recherche de virus chez les polytransfusés, chez les hémophiles mais aussi dans les hépatites post-transfusionnelles ou communautaires, les hépatites fulminantes ou chroniques associées ou non aux virus B, C, G... avant de conclure à de simples portages d'un virus avirulent ou à des associations pathologiques fréquentes ou rares (sur un terrain particulier) hépatiques ou extra-hépatiques.

La découverte de ce « nouveau virus » ubiquitaire TTV comme celle du virus de l'« hépatite G » laisse présager que l'homme héberge durablement de nombreux virus dont nous devrions déterminer s'ils sont pathogènes ou orphelins [17]. Cette découverte confirme ce que nous avions craint, à savoir que « les remarquables outils de la biologie moléculaire nous livrent des virus dont l'intelligence humaine doit découvrir le rôle » [15].

**F.D.  
C.V.  
S.R.**

1. Nishizawa T, Okamoto H, Konishi K, Yoshizawa H, Miyakawa Y, Mayumi M. A novel DNA virus (TTV) associated with elevated transaminase levels in posttransfusion hepatitis of unknown aetiology. *Biochem Biophys Res Commun* 1997 ; 241 : 92-7.

2. Denis F, Nicot T. Découverte de nouveaux virus des hépatites, les « GBV » : quelle est leur place et quel est leur pouvoir pathogène ? *Med Sci* 1995; 11: 883-5.
3. Okamoto H, Akahane Y, Ukita M, Fukuda M, Tsuda F, Miyakawa Y, Mayumi M. Fecal excretion of a non enveloped DNA virus (TTV) associated with post transfusion non A-G hepatitis. *J Med Virol* 1998; 56: 128-32.
4. Okamoto H, Nishizawa T, Kato N, Ukita M, Ikeda H, Iizuka H, Miyakawa Y, Mayumi M. Molecular cloning and characterisation of a novel DNA virus (TTV) associated with post transfusion hepatitis of unknown aetiology. *Hepatology Res* 1998; 10: 1-16.
5. Cossart YE, Field AM, Cant B, Widdows D. Parvovirus like particles in human sera. *Lancet* 1975; i: 72-3.
6. Lefrère JJ, Mariotti M, Tauvin M. B19 parvovirus DNA in solvent/detergent-treated anti-haemophilia concentrates. *Lancet* 1998; 334: 211-2.
7. Simmonds P, Davidson F, Lycett C, Prescott LE, MacDonald DM, Ellender J, Yap PL, Ludlam CA, Haydon GH, Gillon J, Jarvis LM. Detection of a novel DNA virus (TTV) in blood donors and blood products. *Lancet* 1998; 352: 191-5.
8. Naoumov N, Petrova EP, Thomas MG, Williams R. Presence of a newly described human DNA virus (TTV) in patients with liver disease. *Lancet* 1998; 352: 195-7.
9. Pattison JR. Parvoviruses: medical and biological aspects. In: Fields BN, Knipe DM, *et al*, eds. *Fields virology*, 2nd ed. New York: Raven Press, 1990: 1765-81.
10. Anderson MJ, Higgins PG, Davis LR, Willman JS, Jones SE, Kidd IM, Pattison JR, Tyrrell DA. Experimental parvoviral infection in humans. *J Infect Dis* 1985; 152: 257-65.
11. Sumazaki R, Yamada-Osaki M, Kajiwara Y, Shiramata A, Matsui A. Transfusion transmitted virus. *Lancet* 1998; 352: 1308-9.
12. Tuveri R, Jaffredo F, Pol S, *et al*. Impact du nouveau virus des hépatites: TTV en France. Paris : Communications AFEF, 1998: 31 (abstract).
13. Polywka S, Feucht HH, Laufs R. Vertical transmission of the new virus TTV and its detection in breast milk. San Diego: 38th ICAAC, 1998: 21 (abstract LB-2) (addendum).
14. Yamada-Osaki M, Sumazakis R, Noguchi E, Shibasaki M, Matsui A. Transfusion transmitted virus. *Lancet* 1998; 352: 1309-10.
15. Denis F, Pawlotsky JM, Nicot T, Ranger-Rogez S. Virus des hépatites G et GB. In: Seigneurin JM, Morand P, eds. *Virologie Moléculaire médicale*. Paris: Tec et Doc Lavoisier, 1997: 299-307.
16. Cossard Y. TTV a common virus, but pathogenic? *Lancet* 1998; 352: 164.
17. Barin F. Le TTV, nouveau virus transmissible par le sang: virus pathogène ou virus orphelin ? *Biofutur* 1998 (sous presse).

## ■■■■ BRÈVES ■■■■

■■■■ **L'apoptose lymphocytaire T CD8 au cours de l'infection par le VIH est liée à l'activation cellulaire via CXCR4.** Depuis la mise en évidence de l'apoptose des lymphocytes T lors de l'infection par le VIH, le mécanisme de mort des lymphocytes T CD8 est incomplètement éclairci. En effet, l'infection par le VIH nécessite la liaison de la protéine d'enveloppe env au récepteur CD4 et à un récepteur de chimiokine. Le tropisme cellulaire du VIH est déterminé par la protéine d'enveloppe et par l'utilisation d'un récepteur de chimiokine (CCR5) pour les souches monocytopathogènes et CXCR4 pour les souches lymphocytotropiques qui deviennent prédominantes à la fin de l'infection (*m/s* 1997, n° 2, p. 264). Herbein *et al.* (Manhasset, NY, USA) [1] montrent que l'infection *in vitro* de cellules mononucléées du sang par le VIH est associée à une augmentation de l'apoptose des cellules CD4 infectées et également des lymphocytes T CD8 non infectés. L'apoptose des lymphocytes T CD8 dépend largement de la présence de macrophages. La présence de macrophages autologues, ou allogéniques, a le même effet, ce qui suggère que la participation des macrophages n'est pas restreinte par le système HLA. Cependant, le contact direct entre les CD8 et les

macrophages semble nécessaire pour l'induction de l'apoptose. Par ailleurs, l'action des macrophages semble spécifique du VIH, car leur activation par des mitogènes n'induit pas l'apoptose lymphocytaire T CD8. Celle-ci est retardée par rapport au pic de réplication virale observé *in vitro*. De manière intéressante, l'infection par des souches restreintes par CCR5 est moins efficace dans l'induction de l'apoptose T CD8 que celles restreintes par CXCR4. Le même phénomène a été mis en évidence par l'utilisation de molécules gp120 recombinantes provenant d'isolats primaires cytopathogènes (SI). L'implication des récepteurs des chimiokines a été mise en évidence par l'utilisation des ligands de ces co-récepteurs, notamment SDF1 pour CXCR4 et RANTES pour CCR5. Ce dernier ligand n'a pas d'effet sur l'induction de l'apoptose des lymphocytes T CD8, contrairement à SDF1. En fait, SDF1 induit l'expression spécifique de TNF à la surface des macrophages et de son récepteur (TNFR2) sur les lymphocytes T CD8 et non sur les lymphocytes T CD4. Cet effet est reproduit par les molécules gp120 recombinantes. L'analyse des cellules monocytaires du sang périphérique de sujets infectés par le VIH a confirmé le rôle fondamental des

macrophages dans l'apoptose spontanée des lymphocytes T CD8 des patients. En effet, *in vitro*, les anticorps neutralisants anti-TNFR2 et anti-TNF inhibent l'apoptose lymphocytaire TCD8. Ces résultats suggèrent que la stimulation des macrophages par les souches du VIH spécifiques du co-récepteur CXCR4 entraîne l'apoptose des lymphocytes T CD8 par un mécanisme secondaire lié à l'interaction TNF/TNFR2. Ainsi les souches virales prédominantes à la fin de l'infection (dépendantes de CXCR4), ont un effet délétère sur le système immunitaire par l'induction d'une destruction des lymphocytes T CD4 mais également par la mort, indirecte, des lymphocytes T CD8 cytotoxiques qui jouent un rôle fondamental dans le contrôle de la réplication du VIH. A plus long terme, les perspectives de traitement par l'utilisation d'agonistes des récepteurs des chimiokines, dans le but d'inhiber l'entrée du VIH dans les cellules, risque d'entraîner paradoxalement des effets secondaires délétères comme la mort d'effecteurs cellulaires indispensables au contrôle de la réplication virale.

[1. Herbein G, *et al.* *Nature* 1998; 395: 189-94.]