

CAHIER DE

Formation

N° 21

Biologie médicale

Septembre 2001

**VIRUS DES HÉPATITES
B (VHB), delta (VHD), C (VHC), autres**



CAHIER DE

Formation

Biologie médicale



Ceci est la VERSION NUMERIQUE des CAHIERS BIOFORMA déjà parus et distribués à l'ensemble des LABORATOIRES D'ANALYSES de BIOLOGIE MEDICALE en FRANCE.

]

TOUT LE CONTENU DE CE FICHER RESTE LA PROPRIETE DE BIOFORMA.
LES DROITS D'AUTEURS SONT PROTEGES A LA B.N.F.

]

Toute reproduction, toute utilisation, partielle ou totale, des textes, schémas et photos de cet ouvrage, sans l'autorisation écrite de BIOFORMA, seront poursuivies devant les tribunaux compétents.

]

Seule une impression pour une copie personnelle (étudiant, interne, biologiste de labm) est permise.





Cher Confrère,

Les avancées spectaculaires des technologies d'investigation des cellules biologiques ont permis, dans les dix dernières années, une exploration fine et détaillée des virus liés aux pathologies hépatiques.

Les porteurs infectés se comptent par millions. Dans notre pays, la prévalence de la contagion nous indique qu'une large part de la population est potentiellement en mesure d'être concernée par l'un des virus de l'hépatite.

La connaissance intime des caractéristiques des virus et de leurs moyens d'action sont le point de départ de la compréhension des investigations à mener, des diagnostics à établir en liaison permanente avec la clinique.

Le Directeur de Laboratoire d'Analyse est ainsi au cœur de la démarche diagnostique, du choix des molécules thérapeutiques spécifiques, du contrôle de leur efficacité, et *in fine*, de la mise en évidence des marqueurs biologiques indiscutables qui signent la guérison.

Ce Cahier de Formation, œuvre d'experts reconnus, que nous vous proposons ci-après doit être pour vous et vos confrères la pierre d'angle, dans ce domaine, de votre formation continue ainsi qu'un document de référence que vous pourrez consulter aisément dans votre pratique journalière.

Il fait suite au Cahier n° 17 publié l'année dernière.

Nous vous souhaitons une bonne réception de cet ouvrage et espérons que sa qualité technique répondra à vos attentes.

Nous vous prions d'agréer, Cher Confrère, nos cordiales et confraternelles salutations.

Adrien BEDOSSA
Président

L I S T E D E S A U T E U R S

- F. DENIS
Service de Bactériologie - Virologie - Hygiène,
C.H.U. Dupuytren,
Limoges

- F. DUBOIS
Laboratoire de Virologie, CHU Bretonneau, Tours
Institut InterRégional pour la Santé (IRSA), La Riche

- M. MANIEZ
Laboratoire CQFD en virologie,
EFS Nord de France, Lille

LE VIRUS DE L'HÉPATITE B (VHB)

I - CARACTÉRISTIQUES DU VIRUS	13
I.1. Classification	13
I.2. Morphologie	13
I.3. Propriétés physico-chimiques du virus	14
I.4. Organisation génétique	14
I.5. Réplication du virus	18
I.6. Variants.....	21
I.6.1. Variants et virulence	21
I.6.2. Variants d'échappement	21
I.6.3. Variants et résistance à la thérapie	23
II - DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE	23
II.1. Diagnostic direct.....	23
II.1.1. Culture du virus	23
II.1.2. Mise en évidence du virus par microscopie électronique	24
II.1.2.1. Dans le sérum	24
II.1.2.2. Dans les biopsies de foie	24
II.1.3. Détection du génome et de l'ADN polymérase	24
II.1.3.1. La recherche du génome par hybridation	24
II.1.3.2. Amplification génique ou polymerase chain reaction (PCR)	25
II.1.3.3. ADN polymérase	25
II.1.4. Recherche d'antigènes viraux	25
II.2. Diagnostic immunologique et diagnostic indirect	25
II.2.1. Le système Ag HBs/anti-HBs	26
II.2.2.1. L'Ag HBs	26
II.2.2.2. L'anti-HBs	26
II.2.2. Le système Ag HBc/anti-HBc	27
II.2.3. Le système Ag HBe/anti-HBe	28

II.2.4. Le système protéine X/anti-HBx	29
II.2.5. Système polymérase/anti-pol	29
II.2.6. Protéine HBSP/anti-HBSP	29
III - PROFILS SÉROLOGIQUES DANS DIFFÉRENTS TABLEAUX CLINIQUES	30
III.1. Hépatites aiguës à évolution favorable	30
III.2. Hépatites fulminantes	30
III.3. Hépatites chroniques	31
III.4. Cancer primitif du foie (CPF) ou carcinome hépatocellulaire	32
IV - PROFILS SÉROLOGIQUES DANS DES CIRCONSTANCES PRÉCISES	33
IV.1. Cas des nouveau-nés des mères Ag HBs+	33
IV.2. Sujets vaccinés	34
IV.3. Sujets recevant des immunoglobulines	34
IV.4. Sujets immunodéprimés	34
V - PROFILS PARTICULIERS	34
V.1. Liés à des variants	34
V.2. Liés à la cinétique	35
V.2.1. Ag HBs isolés	36
V.2.2. Anti-HBc isolés	37
VI - DÉMARCHES SÉROLOGIQUES PRATIQUES	37
VII - ÉPIDÉMIOLOGIE	38
VI.1. Source virale	38
VI.2. Épidémiologie mondiale	40
VI.3. Épidémiologie en France	41
VIII - PATHOLOGIE	42
VIII.1. Premier cas : la réaction immunitaire est vigoureuse mais mesurée ...	43
VIII.2. Second cas : la réaction de défense est incomplète ou inadaptée ..	44
VIII.3. Le carcinome hépatocellulaire ou CHC	45
IX - ANATOMOPATHOLOGIE	45
IX.1. La ponction biopsie hépatique	45
IX.2. Lésions définissant une hépatite chronique	46
IX.2.1. L'infiltrat inflammatoire	46
IX.2.2. La nécrose hépatocytaire	46
IX.2.3. La fibrose	47

IX.3. Classification des hépatites chroniques	47
IX.4. Biochimie et histologie hépatique	48
IX.4.1. Transaminases	48
IX.4.2. Autres paramètres biochimiques	48
X - MESURES PRÉVENTIVES GÉNÉRALES	49
XI - TRAITEMENT	49
XI.1. Traitement prophylactique	49
XI.1.1. Immunothérapie passive par les immunoglobulines spécifiques anti-HBs	49
XI.1.1.1. Indications de l'immunisation passive après exposition au VHB	50
XI.1.1.2. Posologie recommandée	50
XI.1.2. Les vaccins contre l'hépatite B	50
XI.1.2.1. Généralités	50
XI.1.2.2. Nature des antigènes	52
XI.1.2.3. Concentration antigénique	52
XI.1.2.4. Rythme d'administration	52
XI.1.2.5. Voie d'administration	52
XI.1.2.6. Associations vaccinales	53
XI.1.3. Facteurs limitant l'efficacité ou la stratégie de la vaccination ...	53
XI.1.3.1. Échecs de la vaccination	53
XI.1.3.2. Précautions d'emploi, contre-indications à la vaccination	54
XI.1.3.3. Effets indésirables et polémiques	54
XI.1.4. Efficacité vaccinale	55
XI.1.5. Les cibles vaccinales	58
XI.1.6. Conclusion	58
XI.2. Traitement curatif des hépatites B	59
XI.2.1. Antiviraux.....	59
XI.2.1.1. Molécules ayant une autorisation de mise sur le marché (AMM)	59
XI.2.1.2. Molécules de l'avenir	61
XI.2.1.3. Associations antivirales	61
XI.2.2. Immunothérapie	62
XI.2.3. Transplantation hépatique	62
XII - CONCLUSION	62

VIRUS DE L'HÉPATITE DELTA (VHD)

I - INTRODUCTION	69
II - CARACTÉRISTIQUES DU VIRUS	69
II.1. Classification	69
II.2. Morphologie	70
II.3. Réplication	71
II.4. Interaction VHD et VHB	72
III - LES DIFFÉRENTES ÉTAPES DE L'INFECTION DUE AU VIRUS DE L'HÉPATITE DELTA	73
III.1. Clinique.....	73
III.1.1. Coinfection.....	73
III.1.2. Surinfection	74
III.2. Pathogénèse	74
IV - DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE	75
IV.1. Diagnostic direct	75
IV.1.1. Culture	75
IV.1.2. Mise en évidence des constituants viraux	75
IV.2. Diagnostic indirect	76
IV.2.1. Coinfection	77
IV.2.2. Surinfection	77
V - ÉPIDÉMIOLOGIE	78
VI -TRAITEMENT	79
VI.1. Préventif	79
VI.2. Curatif	79
VII - CONCLUSION	80

LE VIRUS DE L'HÉPATITE C

I - CARACTÉRISTIQUES DU VIRUS	83
I.1. Classification taxinomique	84
I.2. Organisation génétique	84
I.2.1. La région 5'NC	84
I.2.2. La région 3'NC	84

1.2.3. Région codant pour les protéines virales	85
1.2.3.1. Protéines structurales	85
1.2.3.2. Protéines non structurales	85
I.3. Cycle de réplication	85
I.4. Variabilité génétique	86
II - ÉPIDÉMIOLOGIE	87
II.1. Facteurs de risque	87
II.1.1. Risque transfusionnel	87
II.1.2. Risque dû à l'usage de drogue	88
II.1.3. Autres facteurs de risque	88
II.1.3.1. Transmission sexuelle	88
II.1.3.2. Transmission intra-familiale	89
II.1.3.3. Transmission mère-enfant	89
II.1.3.4. Transmission nosocomiale	89
II.1.3.5. Risque professionnel	89
II.2. Prévalence	90
II.3. Incidence	90
III - DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE	90
III.1. Les outils diagnostiques	91
III.1.1. Diagnostic indirect	91
III.1.1.1. Test ELISA	91
III.1.1.2. Test de validation	91
III.1.1.3. Sérotypage	91
III.1.2. Diagnostic direct	92
III.1.2.1. Recherche de l'ARN du VHC	92
III.1.2.2. Génotypage	93
III.1.2.3. Ag VHC	93
III.2. Cinétique des marqueurs sériques	93
III.2.1. Début d'infection	93
III.2.2. Évolution vers la guérison	93
III.2.3. Évolution vers la chronicité	94
III.2.4. Réinfection	95
III.3. Démarche diagnostique	95
III.3.1. Place des différents outils diagnostiques	95
III.3.2. Diagnostic et surveillance d'une hépatite aiguë	96
III.3.3. Diagnostic et surveillance d'une hépatite chronique	96
III.3.4. Diagnostic d'une infection chez le nouveau-né	97

IV - SYMPTOMATOLOGIE	98
IV.1. Atteintes hépatiques	98
IV.1.1. Hépatite aiguë	98
IV.1.2. Infection chronique et hépatopathies	98
IV.1.3. Diagnostic de l'atteinte hépatique : la ponction biopsie hépatique	100
IV.2. Manifestations extra-hépatiques	100
V - TRAITEMENT	101
V.1. Bilan pré-thérapeutique	101
V.2. Schémas thérapeutiques	102
V.3. Surveillance	102

VIRUS DES « HÉPATITES » G ET VTT

INTRODUCTION	111
VIRUS GB TYPE C OU VIRUS DIT DE L'HÉPATITE G	113
INTRODUCTION	113
I - CARACTÉRISTIQUES DU VIRUS	113
I.1. Structure	113
I.2. Génome	114
I.3. Etude phylogénétique	115
I.4. Classification	115
I.5. Réplication	115
II - DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE	116
II.1. Diagnostic direct	116
II.1.1. Culture	116
II.1.2. Détection de la virémie par technique moléculaire	116
II.2. Diagnostic indirect : sérodiagnostic	117
II.2.1. Dépistage	117
II.2.2. Test complémentaire	117
II.3. Interprétation des marqueurs viraux VHG	117
III - ÉPIDÉMIOLOGIE	118
III.1. Population générale	118
III.2. Mode de transmission	119

VI - SYMPTOMATOLOGIE	119
VI - PRÉVENTION ET TRAITEMENT	120
CONCLUSION.....	121

LE VIRUS TTV

INTRODUCTION	129
I - CARACTÉRISTIQUES DU VIRUS	129
I.1. Classification	129
I.2. Génome	130
II - DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE	131
III - ÉPIDÉMIOLOGIE.....	131
IV - POUVOIR PATHOGÈNE	133
IV.1. Expérimental chez l'animal	133
IV.2. Chez l'homme.....	133
V - PRÉVENTION ET TRAITEMENT.....	134
CONCLUSION.....	134

+ un Addendum en fin du cahier

LE VIRUS DE L'HÉPATITE B (VHB)

F. DENIS

Service de Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU Dupuytren, Limoges

M. MANIEZ

Laboratoire C.Q.F.D. en virologie, E.F.S. Nord de France, Lille

Malgré une vaccination très efficace, l'hépatite B demeure un problème de santé publique puisque l'on estime qu'en France l'incidence annuelle de cette maladie est de l'ordre de 10 nouveaux cas par an pour 100 000 habitants et qu'il y a plus de 100 000 porteurs chroniques.

Compte tenu des développements concernant l'hépatite B survenus ces dernières années dans le domaine de la virologie pure, du diagnostic virologique au cours des divers stades de l'infection, des traitements curatifs, mais aussi dans celui de l'épidémiologie et de la prévention avec les polémiques concernant la vaccination, il est apparu nécessaire de faire le point sur les connaissances actuelles concernant tous ces aspects des infections dues au virus de l'hépatite B et sur les traitements à l'usage des biologistes, mais aussi des cliniciens non spécialisés pour lesquels le virus et ses marqueurs constituent souvent un véritable casse-tête.

I. CARACTÉRISTIQUES DU VIRUS

I.1- Classification

Le virus de l'hépatite B (VHB) est le prototype de la famille des *Hepadnaviridae*, qui comprend également le virus de la marmotte (*wood-chuck hepatitis virus* ou WHV), le virus de l'écureuil fouisseur (GSHV), le virus du canard de Pékin (DHBV), le virus du héron (HHBV) et le virus de l'écureuil arboricole (TSHV). Depuis 1998, de nouveaux *Hepadnaviridae* ont été identifiés : le virus du singe laineux (WMHBV) et deux virus aviaires, le virus de l'oie blanche (SGHBV) et le virus de la cigogne (STHBV).

Les *Hepadnaviridae* sont les plus petits virus à ADN connus, ils ont pour cible le foie, ils ont en commun une même structure et une même organisation génétique.

I.2- Morphologie

L'examen, en microscopie électronique (photo 1) du sang des malades porteurs du VHB, montre l'existence de différentes particules schématisées sur la figure 1 [27] :

- particules sphériques, de grande taille (42 nm), correspondant aux virions, peu nombreuses, à l'aspect en cocarde, appelées particules de Dane avec capsid et enveloppe ;
- particules plus nombreuses de deux types : les unes sphériques de petite taille (22 nm), les autres en forme de bâtonnets de 22 nm de diamètre et de longueur variable ; billes et bâtonnets correspondant à un excès d'enveloppe virale.

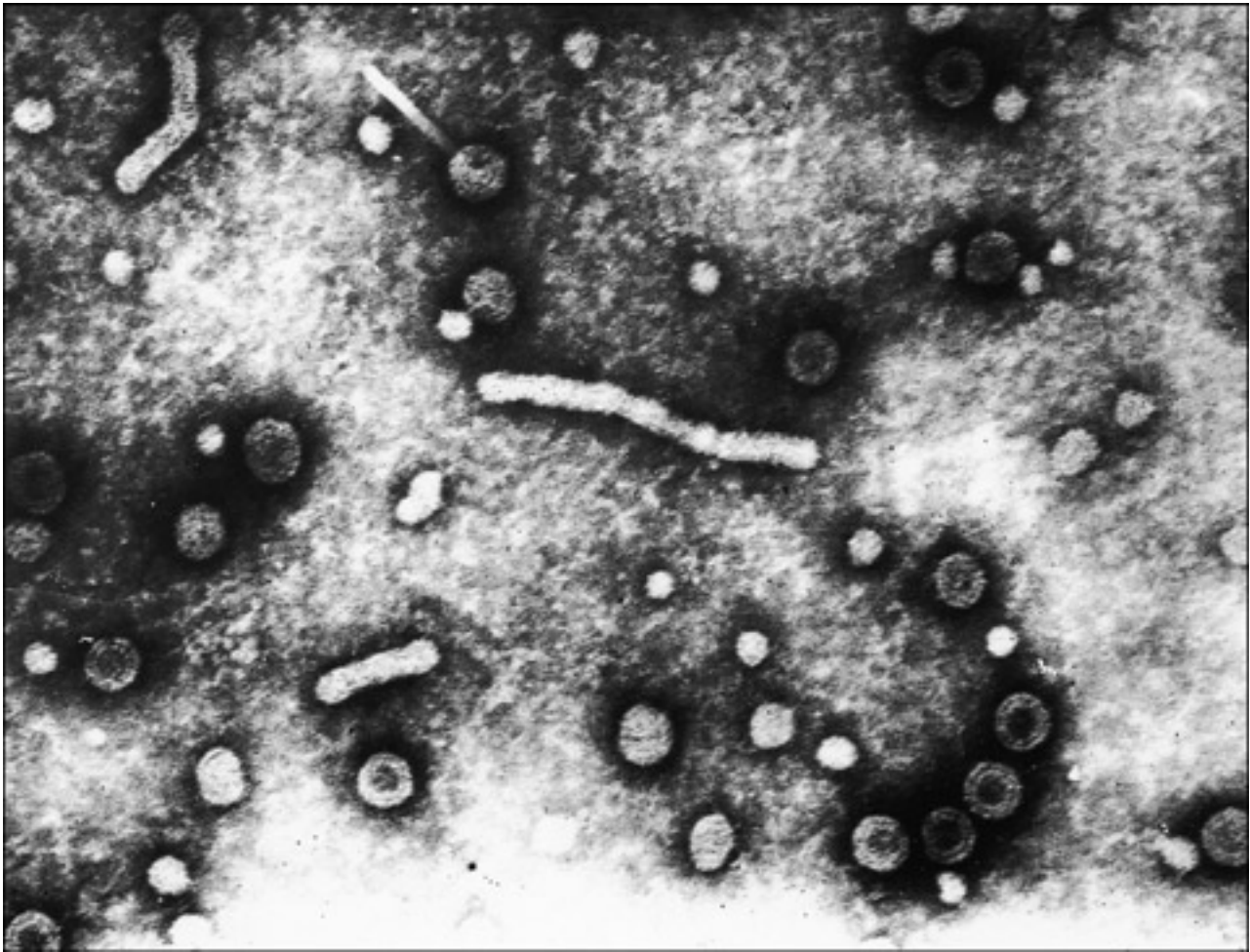


Photo 1

I.3- Propriétés physico-chimiques du virus

Le virus est extrêmement résistant : à l'éther, à la dessiccation, à la chaleur. Dans le sérum, le virus peut garder son pouvoir infectieux des années à - 20 °C, plusieurs mois à 30 °C et plusieurs heures à 60 °C. Il est cependant inactivé après quelques minutes de chauffage à 100 °C et sous l'effet d'une solution à 5 % d'hypochlorite de sodium.

I.4- Organisation génétique

Le VHB a un génome fait d'ADN. Il est circulaire, partiellement bicaténaire, comportant un brin long (cercle continu) L (-) et un brin court S (+) de longueur variable comprise entre 50 et 100 % du brin long, ces deux brins étant complémentaires. Constitué par un peu plus de 3 200 nucléotides, il est organisé en quatre gènes potentiels : S, C, P et X, gènes qui se chevauchent, la chaîne d'ADN pouvant être lue de différentes façons (figure 2).

La structure circulaire du génome est assurée par une région dite cohésive constituée par les 220 nucléotides situés en 5' de chaque brin. Le génome du VHB contient au moins 6 phases de lecture ouverte (tableau I), qui ont la particularité d'être chevauchantes [46] :

- La phase de lecture ouverte S possède trois codons AUG d'initiation de la traduction permettant d'individualiser trois régions (pré-S1, pré-S2 et S) codant pour trois protéines

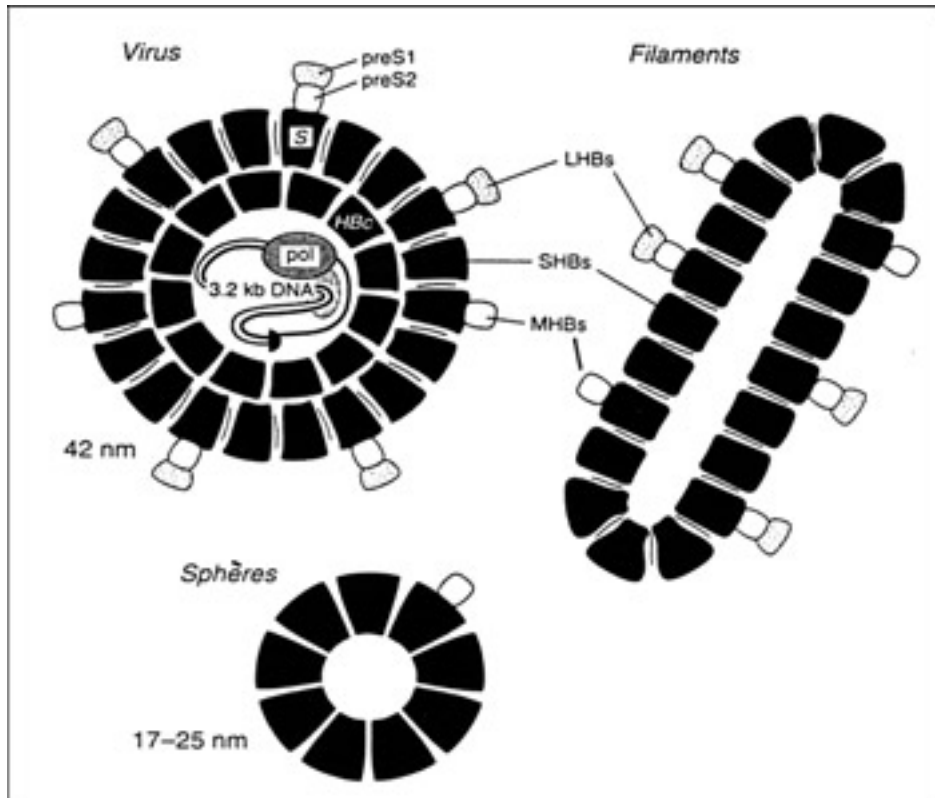


Figure 1 : Représentation schématique des aspects du virus de l'hépatite B observée en microscopie électronique : particule virale de 42 nm avec capsid et enveloppe entourant l'ADN et particules faites d'exudat d'antigène HBs filaments et sphères (d'après Kann et Gerlich)

d'enveloppe : la protéine majeure (S), la protéine moyenne (pré-S2 +S) et la grande protéine (pré-S1 + pré-S2 + S).

- La phase de lecture ouverte pré-C/C possède deux codons AUG d'initiation de la traduction. La séquence C code pour la protéine de capsid du VHB. La protéine pré-C/C est exportée dans la circulation générale après maturation post-traductionnelle dans le cytoplasme cellulaire et porte le déterminant antigénique HBe.

- La phase de lecture ouverte P code pour l'ADN polymérase virale.

- La phase de lecture ouverte X code pour une protéine possédant une forte activité trans-activatrice qui joue vraisemblablement un rôle important dans la carcinogenèse associée au VHB.

- L'ORF 5 code pour une protéine de fonction inconnue.

- L'ORF 6 est antisens et code pour une protéine de fonction inconnue.

Des éléments additionnels sont impliqués dans la transcription virale :

- les promoteurs internes associés aux transcrits synthétisés au cours de la réplication ;

- au moins deux séquences activatrices (« *enhancers* ») sur lesquelles des protéines virales ou cellulaires se fixent pour activer le promoteur et stimuler la transcription des gènes S et X ;

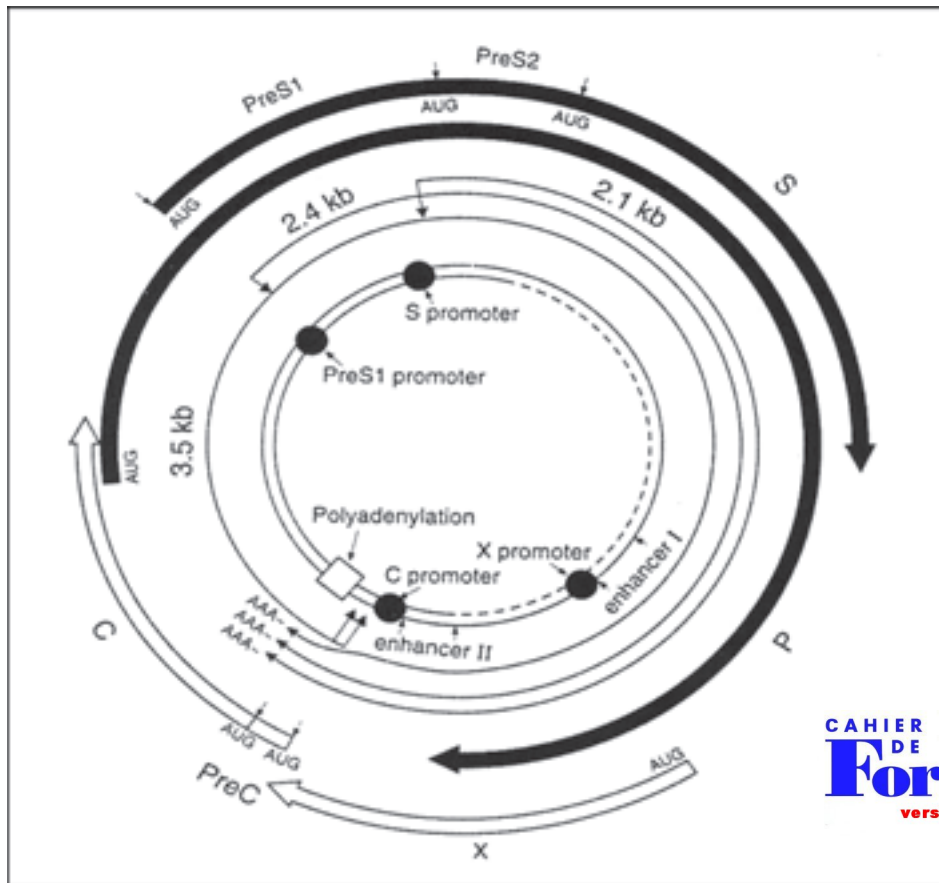


Figure 2 : Organisation du génome du virus de l'hépatite du virus de l'hépatite B.

L'ADN est circulaire double brin, il contient 4 promoteurs qui commandent la synthèse de 4 transcripts codant la nucléocapside virale (core, précore), la polymérase (POL), l'enveloppe (ENV grand, moyenne, majeure) et la protéine transactivatrice (X)

- un élément glucocorticoïde dépendant situé entre les phases de lecture P et S qui agit comme un activateur ;
- une structure « U5-like » qui joue un rôle dans la réplication virale.

Une nouvelle protéine nommée HBSP (*hepatitis B splice protein*) vient d'être décrite ; elle intervient dans la persistance de l'infection virale [55].

Par séquençage complet du génome de différents isolats, on a pu observer une certaine variabilité et identifier différents génotypes qui ont un degré de divergence inter-groupe d'au moins 8 %.

On reconnaît à ce jour 7 génotypes [57]. Il existe une répartition géographique de ceux-ci :

A : Pandémie N-O Europe, N Amérique, Afrique Centrale

B : Indonésie, Chine, Vietnam

C : E Asie, Corée, Chine, Japon, Polynésie, Vietnam

D : Pourtour méditerranéen, Inde

E : Afrique

F : Amérique, Polynésie

Tableau I : Caractéristiques des produits des gènes du virus de l'hépatite B, de leur possibilité de détection dans le sérum et de celle des anticorps homologues (R = routine, P = possible, E = exceptionnel)

Gènes	Structure/ Fonction	Protéines	Poids moléculaire	Détection <i>in vivo</i>	Anticorps détectables
C	Structure Capside	C pré C/C	P22 P25 P17 (15-18)	NON Ag HBc (E) NON OUI Ag HBe (R)	anti-HBc (R) NON anti-HBe (R)
S	Structure Enveloppe	pré-S2 pré-S1 S	P39/GP42 GP33/GP36 P24/GP27	OUI Ag HB-préS2 OUI Ag HB-préS1 OUI Ag HBs	anti-préS2 (P) anti-préS1 (P) anti-HBs (R)
P	Polymérase	pol	P90	OUI (activité) (P)	anti-pol (E)
X	Transactivation	X	P17	NON	anti-HBx (E)

En cumulant les données obtenues de France et aux États-Unis, on trouve en ordre décroissant les génotypes A : 54 %, D : 19 %, C : 12 %, G : 11 %, puis avec une fréquence faible les génotypes B : 3 % et E : 1 %.

Le gène S code pour l'enveloppe du VHB. Cette enveloppe est formée de trois protéines associées à une bi-couche lipidique, chacune d'elles étant codée par une région définie du génome viral. On distingue une protéine majeure (*small HBs* : S HBs) codée par le gène S proprement dit et deux autres protéines appelées protéine moyenne et grande protéine, codées respectivement par les régions pré-S2/S (*middle HBs* : M HBs) et pré-S1/pré-S2/S (*large HBs* : L HBs). Ces trois protéines (figure 1) portent les déterminants de l'antigène de surface du virus (Ag HBs) [42]. La protéine S HBs, ou petite protéine, est la composante principale de l'enveloppe du VHB (65 % des protéines d'enveloppe dans les virions, 80 % dans les filaments et 90 % dans les sphères). Codée par la région S, elle est composée de 226 acides aminés (aa) et existe sous deux formes glycosylées (p 24) et N-glycosylée au niveau du résidu asparagine 146 (gp 27). La protéine moyenne (M HBs) comporte le domaine S précédé des 55 aa de la région pré S2 ; elle existe sous deux formes N-glycosylées : gp 33 et gp 36. La grande protéine d'enveloppe L HBs présente une extension de 108 à 119 aa (domaine pré-S1) par rapport à la protéine M HBs ; elle existe également sous deux formes non glycosylée p 39 et N-glycosylée (gp 42). Cette grande protéine est présente préférentiellement à la surface des particules virales complètes (25 %), plus rarement à la surface des filaments (10 %), peu à la surface des sphères (< 1 %).

La topologie des protéines d'enveloppe du VHB tient à l'existence de plusieurs domaines transmembranaires. L'une des boucles est stabilisée par des ponts disulfures intra-chaînes établis entre les cystéines de cette région. Elle contient le principal déterminant antigénique de l'Ag HBs appelé déterminant « a » entre les aa 121-149, il en sera reparlé.

L'Ag HBs est hétérogène ; en effet, on connaît l'existence de sous-types. Ces sous-types sont constitués du déterminant antigénique « a » commun à tous les sous-types évoqués

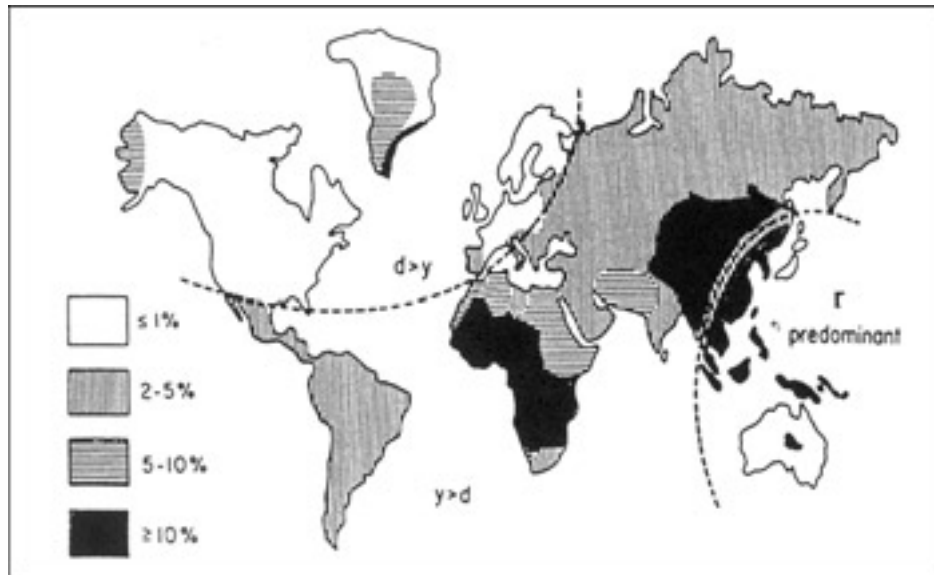


Figure 3 : Carte mondiale de prévalence de l'Ag HBs et des zones de prévalence des déterminants antigéniques d, y et r

précédemment et de deux paires de déterminants mutuellement exclusifs (*d* ou *y* et *w* ou *r*) d'où les 9 sous-types : *ayw1*, *ayw2*, *ayw3*, *ayw4*, *ayr*, *adw2*, *adw4*, *adrq+* et *adrq-*. Certains de ces sous-types sont plus fréquents dans certaines zones géographiques (figure 3).

Il existe une relation (non absolue) entre les types immunologiques et les génotypes du VHB. Les types *adr* et *ayr* sont en effet associés au génotype C, les types *ayw2* et *ayw3* au génotype D, les type *ayw4* au génotype E et le type *adw4* au génotype F ; en revanche, le type *ayw2* est exprimé par des souches des trois génotypes : A, B et C.

Le gène C code pour la protéine de la nucléocapside Ag HBc et la région pré-C/C pour l'Ag HBe : cet Ag HBe est généré à partir de la protéine de core.

Le gène P code pour la polymérase virale qui a des similitudes avec les transcriptases inverses des rétrovirus.

Le gène X code pour une protéine ayant une fonction de transactivation et pourrait augmenter l'expression des autres protéines virales.

I.5- Réplication du virus (figure 4) [41, 44, 53]

Le virus de l'hépatite B a pour cible principale l'hépatocyte au sein duquel il peut se répliquer, mais il peut aussi se multiplier dans les lymphocytes.

Pour infecter la cellule hôte qu'est l'hépatocyte, le VHB doit utiliser un récepteur cellulaire qui va permettre l'entrée du virus et une infection productive.

L'absence de système de culture *in vitro* du VHB a compliqué la compréhension du mécanisme d'entrée du virus dans les cellules.

De nombreux candidats récepteurs du VHB ont été proposés, sur la base de leur capacité à se lier aux différentes protéines d'enveloppe du virus (HBs, pré-S2 et/ou pré-S1), mais leur rôle dans la pénétration du virus au cours de l'infection n'a pas été démontré.

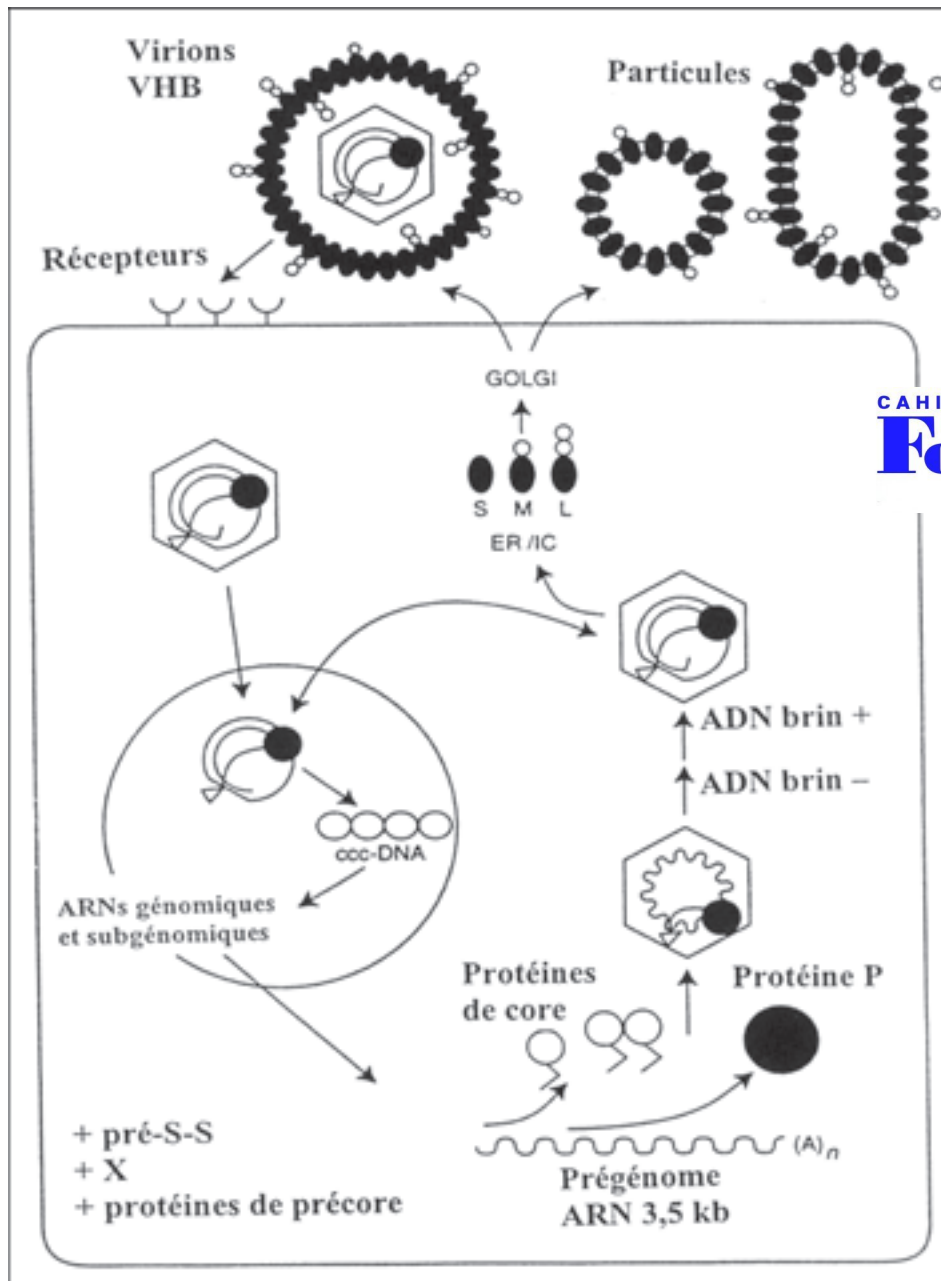


Figure 4 : Cycle de répllication du virus de l'hépatite B

Les différentes protéines candidats ont été recensées par Duclos-Vallée et al [17] et figurent dans le tableau II.

Alors que le domaine pré-S2 avait été considéré initialement comme étant le site d'attachement du virus aux hépatocytes humains *via* le site de fixation à l'albumine humaine sérique polymérisée (*polymerized human serum albumin* ou pHSA), il apparaît aujourd'hui peu vraisemblable qu'il joue ce rôle. En fait, les trois domaines de l'enveloppe du VHB ont été incriminés sans que l'on connaisse le rôle respectif des différents domaines, mais la région pré-S1 joue probablement un rôle majeur dans l'attachement aux hépatocytes. Des travaux très récents sont en faveur d'une implication de l'annexine V humaine (haV) dans les premières étapes de l'infection ; l'haV pourrait être le récepteur primaire *via* la région S et la GAPDH (glycéraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase) enzyme de la

Tableau II : Les différentes protéines candidats-récepteurs susceptibles d'interagir avec le VHB (d'après Duclos-Vallée et al) [17]

Protéines cibles	Protéine de surface du VHB
Apolipoprotéine H (Apo-H) Annexine V humaine (haV)	Ag HBs
Albumine humaine polymérisée (pHSA) Fibronectine Récepteur de la transferrine	Région pré-S2
Glycoprotéine sérique de 50 kd	Régions pré-S2/pré-S1
Interleukine 6 Immunoglobuline A (IgA), ASGP-R Glycéraldéhyde-3-phosphate déhydrogénase (GAPDH) CD1a Protéine cellulaire de 80 kd	Région pré-S1

glycolyse serait le récepteur secondaire facilitant la décapsidation par phosphorylation de la capsid virale après internalisation des particules virales.

Après décapsidation dans le cytoplasme, le génome pénètre dans le noyau de la cellule, donne naissance à un ADN circulaire refermé, puis, toujours dans le noyau, à une transcription avec synthèse à partir du brin long de l'ADN superenroulé d'un ARN pré-génomique de 3,5 kb et d'ARN subgénomiques de 2,4-2,1 et 0,5 kb qui codent les protéines de capsid, d'enveloppe S/pré-S₂, S-pré-S₂/pré-S₁, mais aussi P et X. Après encapsidation de l'ARN + pré-génomique dans le cytoplasme, intervient une transcriptase inverse pour donner naissance à un brin d'ADN – puis d'un brin + long d'ADN grâce à l'ADN polymérase précédant la synthèse du brin court toujours dans la capsid. Cette étape précède l'acquisition de l'enveloppe avec sortie de la cellule par bourgeonnement (figure 4) [43]. Certaines de ces étapes sont encore mal comprises. Quatre ou cinq types de signaux sont impliqués dans la transcription du virus (promoteurs, activateurs ou *enhancers*, signal de polyadénylation de l'extrémité 3' de ARNm, activation de transcription glucocorticodépendant...).

La réplication du génome viral passe donc par une étape de transcription inverse permettant, à partir d'un ARN pré-génomique, la synthèse du brin (-) de l'ADN viral. Ce mode de réplication, bien que ne comportant pas d'étape d'intégration de l'ADN, a pu faire comparer la réplication des hépadnavirus à celle des rétrovirus. L'intervention de l'équivalent d'une transcriptase inverse serait à l'origine d'un taux de mutations plus élevé que celui rencontré dans la réplication des virus à ADN « usuels » et jouerait un rôle dans l'apparition de VHB variants.

I.6- Variants [60, 66, 67]

Quand on compare les séquences nucléotidiques des souches de VHB, on constate qu'il existe entre celles-ci de 0,2 à 11 % de différence.

On considère que se produit une mutation ponctuelle (addition ou délétion) pour 1 000 à 100 000 nucléotides par cycle de réplication.

Le taux de mutation est favorisé par le taux de réplication, par le fait que l'ARN est un intermédiaire de réplication.

Les mutations surviennent le plus souvent au niveau de certains points spécifiques du génome viral (*hot spots*).

Les mutations génomiques peuvent avoir des conséquences très variables selon leur nature (mutations ponctuelles, délétions, insertions) et leur situation. Certaines mutations sont incompatibles avec la persistance du virus, elles sont létales ou délétères pour le virus, c'est la sélection négative, mais, en général, ces mutations ont peu de conséquences sur la biologie du virus soit parce qu'elles n'entraînent pas de changement d'acides aminés, soit parce qu'elles portent sur des régions fonctionnellement peu importantes [23, 43]. Elles sont phénotypiquement silencieuses et dans l'organisme on observe des mélanges de « quasi-espèces ».

On désigne sous le terme de variants de classe I les souches existant naturellement dans les populations infectées (exemple : génotypes ou sous-types) et sous celui de variants de classe II des souches induites par la réponse naturelle de l'organisme à l'infection ou par l'intermédiaire d'une intervention humaine (sérothérapie et vaccination).

I.6.1- Variants et virulence

On a invoqué un lien entre contagiosité et transmissibilité et certains variants (notamment dans le précore) [61, 66]. On a également associé mutations et certaines conséquences cliniques telles qu'implication dans des hépatites fulminantes, évolution plus fréquente vers la chronicité chez les nouveau-nés, voire évolution vers des hépatites chroniques fibrosantes.

I.6.2- Variants d'échappement

Les mutations peuvent favoriser la survie de la souche mutée (mutants d'échappement) lui permettant d'échapper aux lymphocytes T cytotoxiques, d'échapper aux anticorps circulants « neutralisants » induits par une infection, mais aussi à des anticorps monoclonaux ou des immunoglobulines spécifiques (administrées à des nouveau-nés ou à des transplantés hépatiques notamment), voire par une immunité vaccinale.

Ces mutants d'échappement présentent une ou plusieurs substitutions d'acides aminés altérant un épitope initialement reconnu par la réponse immune, le virus muté peut alors survivre :

- les cellules infectées n'étant pas détruites ;
- le virus n'étant pas neutralisé.

L'échappement aux anticorps concerne essentiellement l'Ag HBs, et l'épitope « a » contre lequel sont dirigés les anticorps neutralisants, les principales mutations observées sont

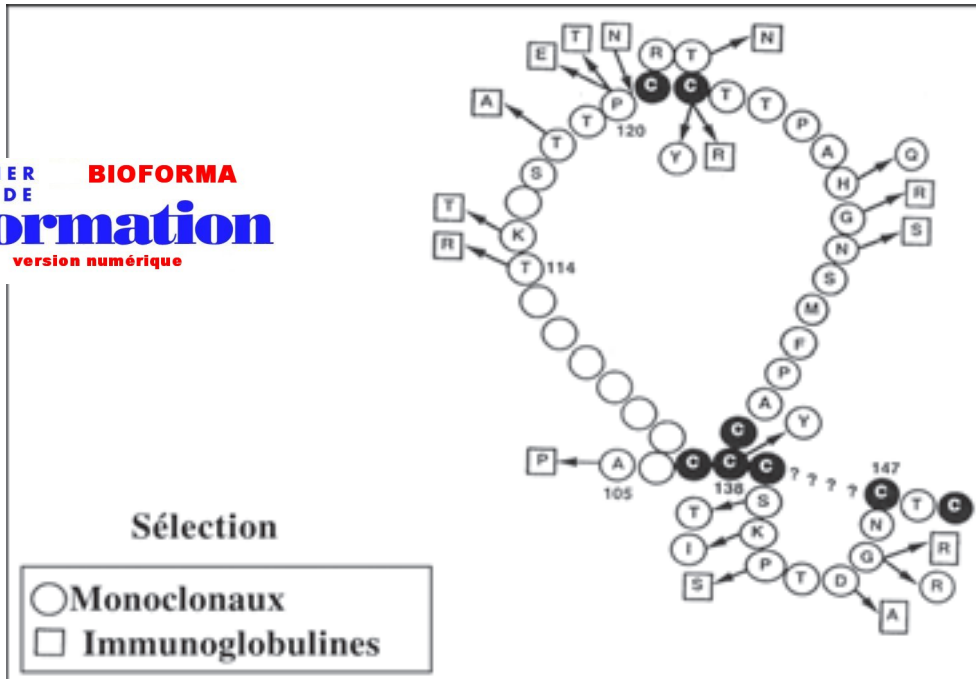


Figure 5 : Mutants de l'Ag HBs sélectionnés par des traitements avec des anticorps monoclonaux ou des immunoglobulines après transplantation hépatique

regroupées sur la figure 5 empruntée à Carman et al [6, 7, 8, 9]. Les mutants favorisés par la vaccination et les insertions sont indiqués sur la figure 6. Certaines mutations ont été

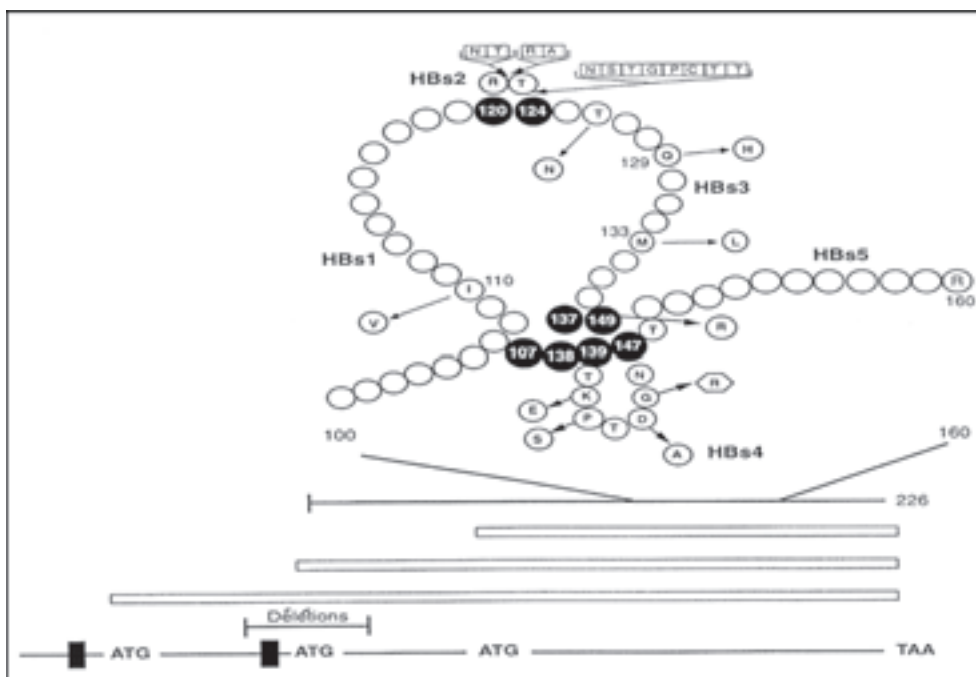


Figure 6 : Variants et insertions observés chez des vaccinés au niveau de l'enveloppe (avec les protéines L, M et S et l'Ag HBs), les 2 boucles majeures, la boucle mineure et les ponts disulfures situés au niveau des cercles noirs probablement entre 107/137 (ou 138), 139/147 (ou 149) et 121/124 pour les variants associés à la vaccination, le SG 145 R est le plus fréquent

observées chez des greffés hépatiques traités par des anticorps anti-HBs. On distingue les mutants d'échappement aux :

- anticorps vaccinaux : mutants SG 145 R (largement répandu), ST/I 126 N (Japon), SK 141 E (Gambie), SC 149 R (Sardaigne) ;
- immunoglobulines : mutants S G 145 R, ST 140 S, SC 124 Y, SC 124 R avec des pertes relativement fréquentes des cystéines.

Ces mutations, outre l'avantage conféré aux souches en terme d'échappement, ont aussi des conséquences en terme de diagnostic permettant à certains de ces mutants d'échapper à certaines trousse de détection de l'Ag HBs ; d'autres mutations compliquent également le diagnostic tels les variants « méditerranéens » qui sont responsables d'infections chroniques avec répllication alors que les patients restent Ag HBe négatif. Il en sera reparlé.

1.6.3- Variants et résistance à la thérapie

Enfin, la mise sous traitement antiviral favorise l'apparition de mutations notamment au niveau de la polymérase, ces mutants ont été décrits après mise sous 3 TC, penciclovir, adefovir, dipivoxil.

On voit ainsi l'importance et le large spectre des mutants qui ont fait l'objet de revues très complètes [6, 7, 8, 9, 23, 43].

■ II. DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE [3, 15, 16, 21, 26, 30, 32, 33, 34, 48, 52, 58, 67, 68]

Compte tenu de la diversité et de la complexité de l'évolution de la maladie due au VHB, de la bonne connaissance que l'on a du virus, de sa structure, de ses antigènes et de sa répllication, il n'est pas étonnant que de nombreux marqueurs aient été explorés ; certains font partie de la routine, d'autres sont réservés à des cas particuliers et à des laboratoires spécialisés.

II.1- Diagnostic direct

Le diagnostic direct comporte la recherche du VHB et de ses constituants.

II.1.1- Culture du virus

Il n'est pas possible d'obtenir le VHB par inoculation à des systèmes cellulaires. Le chimpanzé, animal de choix, fait assez régulièrement une hépatite après inoculation ; mais ceci ne peut être mis en œuvre que dans certains laboratoire et non en vue d'un diagnostic de routine.

II.1.2- Mise en évidence du virus par microscopie électronique

II.1.2.1- Dans le sérum

Les nucléocapsides ou particules de Dane sont en nombre toujours très inférieur à celui des petites particules (billes et bâtonnets). Les concentrations maximales retrouvées dans le sérum atteignent 10^{14} /ml pour billes/bâtonnets et 10^9 /ml pour les visions. Pour ces derniers, on observe des « cores » pleins et des « cores » vides. La densité virale explique que ces particules soient observables directement en microscopie électronique ou mieux en immuno-microscopie électronique ; elle rend compte de la contagiosité des échantillons.

II.1.2.2- Dans les biopsies de foie

De nombreuses particules ayant l'aspect de nucléocapsides sont présentes dans les noyaux des hépatocytes, quelques-unes étant retrouvées au niveau du cytoplasme.

II.1.3- Détection du génome et de l'ADN polymérase

II.1.3.1- La recherche du génome par hybridation

Elle peut être réalisée en utilisant des sondes pour repérer les séquences d'ADN viral dans le sang ou les tissus par hybridation moléculaire ; il est aussi possible de révéler la présence de fragments de génome par amplification génique.

L'ADN viral peut être recherché dans le sérum ou dans des biopsies hépatiques par hybridation ou transfert-hybridation, en utilisant des sondes froides. Ces dernières ont classiquement une sensibilité moindre que les sondes radioactives ; les sondes chaudes présentent les contraintes inhérentes aux produits marqués (demi-vie, compteurs de radioactivité), mais sont encore actuellement les plus utilisées. Grâce aux sondes, il est possible de donner des réponses quantitatives en exprimant la quantité d'ADN du VHB en pg/ml. Les performances des différentes trousse figurent dans le tableau III.

Selon Ho et al [25], on peut proposer une formule de conversion entre les deux trousse Digene Hybrid capture II (HC II) et le DNA branché (b DNA) : ADN du VHB par HC II (picogramme/ml) = $3,19 \times$ ADN du VHB par b DNA (mega équivalents/ml).

La présence d'ADN sérique est le témoin d'une répllication virale, corrélée avec la présence d'ADN-polymérase, et parfois, mais pas toujours, avec l'Ag HBe. La multiplication

Tableau III : Performance de différentes trousse de détection de l'ADN du VHB notamment du Digene HBV test, Hybrid capture II et II ultrasensible (US) (Murex Diagnostic SA/Abbott) utilisant une ultracentrifugation

Test	Seuil inférieur		Seuil supérieur	
	pg/ml	copies/ml	pg/ml	copies/ml
Hybrid capture	2,5	$0,7 \cdot 10^6$	2 000	$5,6 \cdot 10^8$
Hybrid capture II	0,5	$1,42 \cdot 10^5$	6 000	$1,7 \cdot 10^9$
Hybrid capture II (US)	0,017	$4,7 \cdot 10^3$	200	$5,7 \cdot 10^7$
Monitor	nc	400	nc	10^7

nc : non communiqué.

virale se traduit par la présence d'ADN libre en grande quantité dans le foie, avec production de particules complètes infectieuses qui passent dans la circulation sanguine (ADN circulant détectable). En l'absence de réplication virale, l'ADN du VHB peut se maintenir dans les cellules hépatiques, sous forme intégrée dans le génome hépatocytaire ; l'ADN du VHB n'est alors plus détectable dans le sérum. En dehors du foie, l'ADN du VHB a pu être détecté dans les cellules mononucléées périphériques (lymphocytes compris).

II.1.3.2- Amplification génique ou polymerase chain reaction (PCR)

Cette technique permet l'amplification spécifique de séquences nucléotidiques et l'obtention rapide d'informations sur la séquence virale. En dehors du fait qu'elle est plus sensible que les sondes pour détecter l'ADN, elle permet de caractériser des variants du VHB qui, à la différence des VHB « classiques », provoquent, soit des réponses sérologiques dissociées, soit l'absence complète de marqueurs sériques.

Alors que les sondes sont utilisées dans bon nombre de laboratoires, les techniques de PCR sont actuellement réservées à des laboratoires très spécialisés ; mais cette situation est susceptible d'évoluer, il est intéressant en effet de déterminer et de suivre le niveau de réplication du VHB. Les tests commercialisés d'amplification de la cible (PCR Monitor HBV Roche : 400 à 40 millions de copies d'ADN/ml) ou du signal (bDNA quantiplex HBV Chiron : 0,7 million à 2 milliards de copies/ml) sont les plus utilisés. Rappelons que la décision politique de détection chez tous les donneurs de sang de l'ADN du VHB par amplification génique est en discussion.

II.1.3.3- ADN polymérase

L'ADN polymérase est un marqueur direct de réplication. On mesure l'activité enzymatique en étudiant la synthèse *in vitro* d'ADN radioactif à partir de précurseurs marqués (thymidine tritiée) [65]. Cette technique très sensible est de réalisation délicate et demeure l'apanage des laboratoires spécialisés. Cet examen est pratiqué seulement pour suivre les traitements antiviraux.

II.1.4- Recherche d'antigènes viraux

Cette recherche des antigènes HBs, pré-S, HBe fait partie du diagnostic direct, mais il est préférable de les étudier dans le cadre des couples antigènes-anticorps.

II.2- Diagnostic immunologique et diagnostic indirect

Il existe trois systèmes principaux antigènes-anticorps : Ag HBs/anti-HBs, Ag HBc/anti-HBc, Ag HBe/anti-HBe et deux systèmes accessoires. Ils seront examinés successivement.

II.2.1- Le système Ag HBs/anti-HBs

Dans le sérum

II.2.1.1- L'Ag HBs

L'Ag HBs sérique peut schématiquement être considéré comme traduisant la présence du VHB. Il correspond à une surproduction d'enveloppe virale. Au cours du temps de nombreuses techniques ont été utilisées pour dépister cet antigène, longtemps appelé antigène australia. L'immunodiffusion et l'électro-synérèse utilisées naguère sont abandonnées désormais. D'autres existent mais ont une diffusion limitée, telle l'agglutination de particules de latex (test rapide) et l'hémagglutination. Ces techniques ont permis d'abaisser les seuils de détection de 8 000 ng/ml à environ 50 ng/ml. Actuellement, on préfère utiliser par sécurité des techniques ayant des seuils plus bas ($\leq 0,1$ à $0,5$ ng/ml), à savoir les techniques immunoenzymatiques (ELISA) ou immunoenzymatiques microparticulaires (MEIA). La détection de l'Ag HBs par les techniques immunoenzymatiques a connu des évolutions au cours du temps. On a utilisé successivement dans les trousse de dépistage de l'Ag HBs des anticorps anti-HBs polyclonaux, puis monoclonaux.

Leur seuil de détection plus bas a permis un meilleur diagnostic de cette infection et la réduction du risque résiduel en transfusion.

Par ailleurs, des échantillons négatifs avec les tests polyclonaux notamment quand l'Ag HBs est complexé peuvent s'avérer positifs avec les réactifs monoclonaux. L'inverse a également été signalé.

Le test de confirmation par « neutralisation » permet de vérifier la spécificité Ag HBs de tout échantillon donnant un signal positif lors du dépistage.

Différents auteurs dont Ijaz et al [26] ont proposé des immuno-essais permettant la détection de ces mutants utilisables notamment chez les greffés hépatiques.

Au cours d'une surinfection d'un porteur de l'Ag HBs par le virus delta (VHD), on peut observer une diminution voire une disparition transitoire de l'Ag HBs dans le sérum.

La technique radioimmunologique (RIA) reste la référence, mais son usage est limité.

II.2.1.2- L'anti-HBs

L'anticorps anti-HBs a lui aussi été détecté, au cours du temps, avec des techniques de sensibilité croissante ; les seules utilisées actuellement en routine sont les techniques ELISA, MEIA et RIA.

On peut procéder à une détection, mais aussi au titrage des anti-HBs, et on considère généralement qu'un titre supérieur ou égal à 10 UI/l est protecteur.

L'apparition des anticorps anti-HBs signe soit un arrêt de la réplication virale avec guérison, soit une protection post-vaccinale.

En plus du système Ag HBs/anti-HBs exploré en routine, le système pré-S/anti pré-S est de connaissance plus récente. Malgré la commercialisation de trousse, ce système n'est encore utilisé que par quelques laboratoires.

Les antigènes pré-S1 et pré-S2 circulants sont les témoins d'une production de particules infectieuses. Ils sont très abondants sur les particules de Dane, mais ils peuvent aussi être

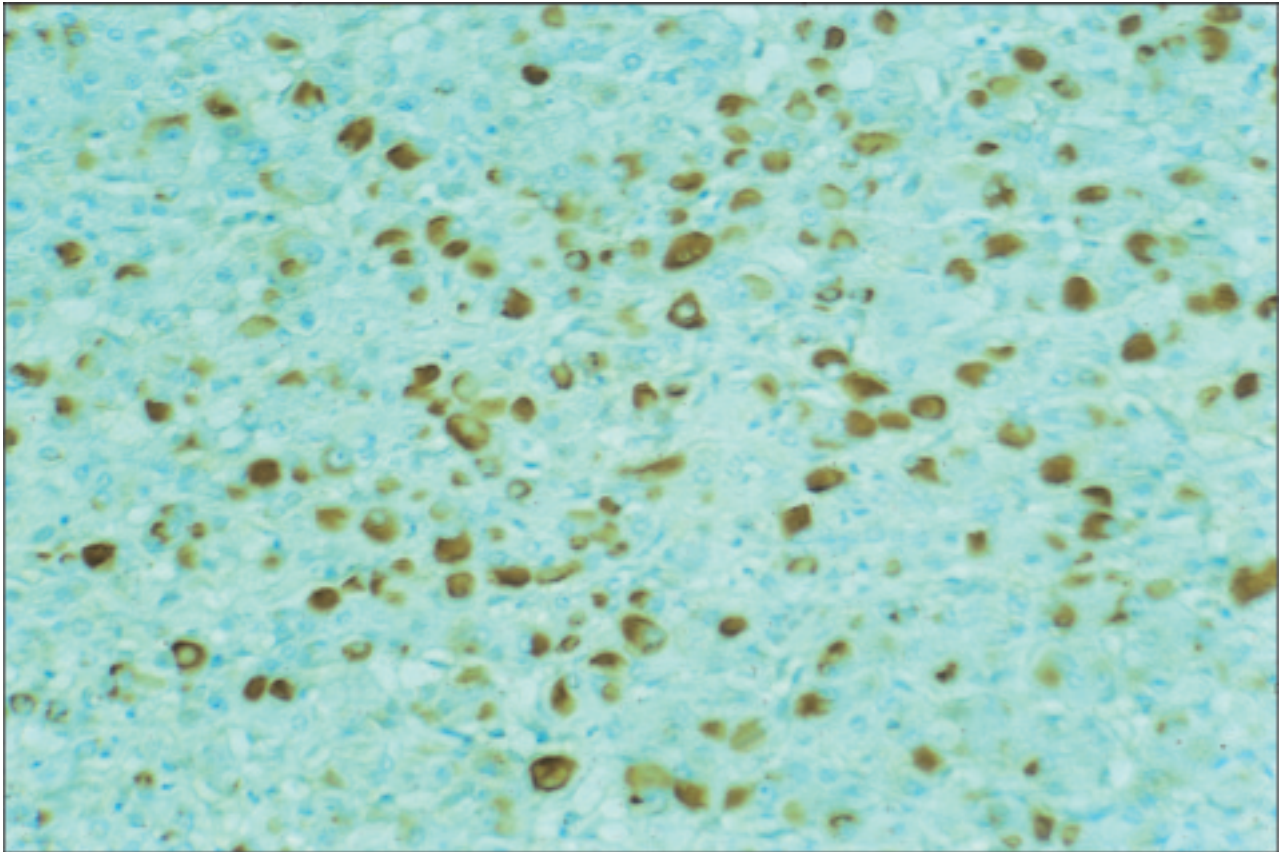


Photo 2

retrouvés sur les bâtonnets ; les billes de 22 nm sont constituées presque exclusivement d'Ag HBs. La découverte de ces antigènes pré-S signe une réplication virale. En cas d'intégration du génome du VHB, l'antigène pré-S1 est absent et l'Ag pré-S2 n'est retrouvé qu'exceptionnellement. Les anticorps anti-pré S comme les anti-HBs sont annonciateurs d'une évolution favorable, voire d'une protection pour les sujets vaccinés avec un antigène pré-S/S.

Dans le foie (photo 2), l'immunofluorescence, l'immunopéroxydase ou la coloration de Shikata à l'orcéine révèlent l'Ag HBs au niveau du cytoplasme.

II.2.2- Le système Ag HBc/anti-HBc

L'antigène HBc ne peut être mis en évidence dans le sérum en pratique courante. Sa détection nécessite ultracentrifugation et méthode d'immunocapture.

L'anti-HBc apparaît précocement dans le sérum quelle que soit l'évolution, que celle-ci se fasse vers la guérison ou vers la chronicité. Ce ne sont pas des anticorps protecteurs, mais seulement les témoins d'une infection récente ou ancienne par le VHB.

L'anti-HBc IgM est dosé en routine en même temps que les anticorps anti-HBc totaux. Il est possible néanmoins de rechercher et de quantifier les anti-HBc dans la fraction IgM ; on les retrouve dans les infections récentes, mais aussi chroniques. Ces anticorps anti-HBc ou anti-HBc IgM sont mis en évidence, dans le sérum, par ELISA et MEIA, voire par RIA.

En immunofluorescence ou en immunopéroxydase, on peut détecter l'Ag HBc dans les hépatocytes (photo 3), au niveau du noyau, contrairement à l'Ag HBs qui, lui, est cytoplasmique.

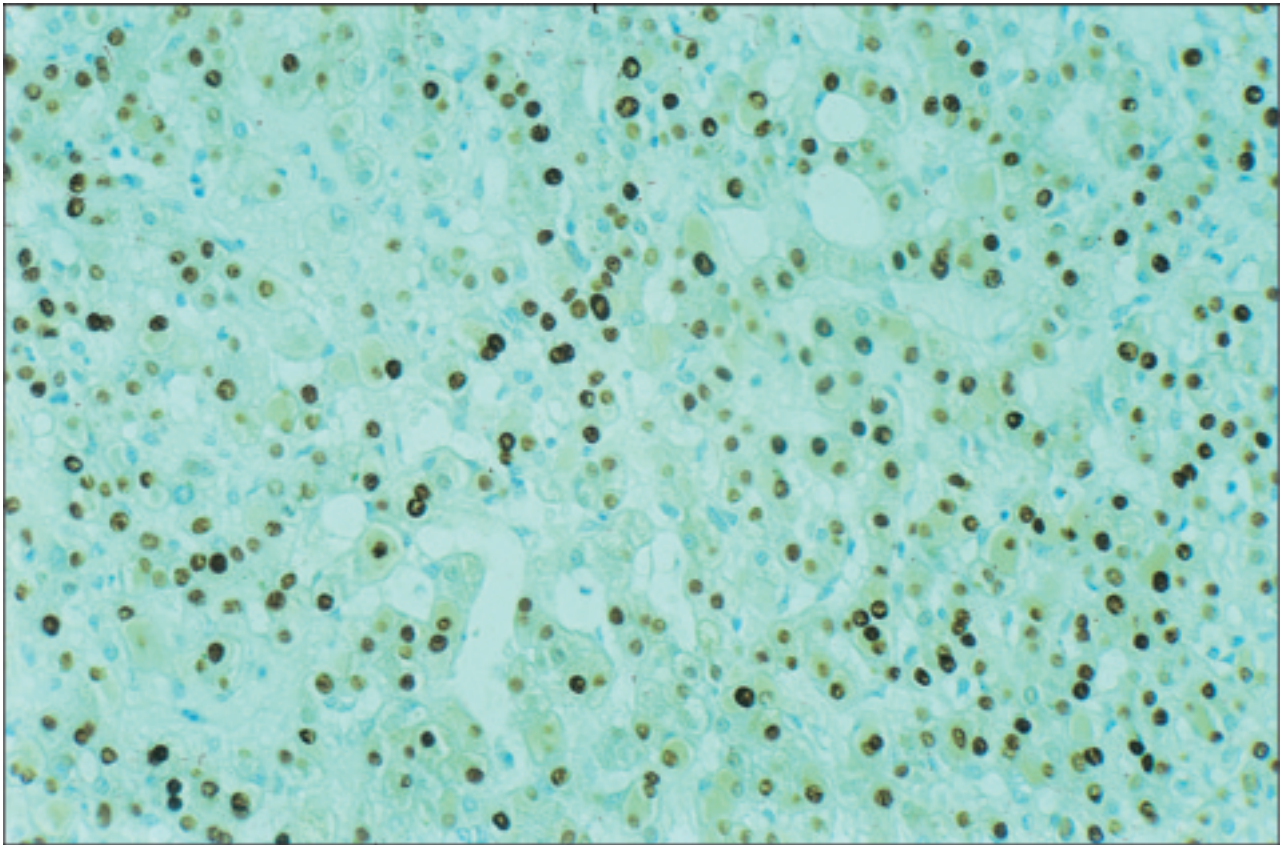


Photo 3

II.2.3- Le système Ag HBe/anti-HBe

Alors qu'on ne détecte pas en routine d'Ag HBc circulant, l'Ag HBe, produit de dégradation de l'Ag HBc, peut être facilement retrouvé dans le sérum. Sa détection est généralement contemporaine de la présence des particules de Dane, de l'ADN polymérase et de l'ADN viral. Témoin d'infectiosité et de réplication virale, il signale l'évolutivité du processus infectieux chez les malades. L'immunodiffusion (technique qui permet de reconnaître différentes spécificités dans le système e, e1, e2, e3), l'électrosynérèse, la RIA, et actuellement en routine l'ELISA, permettent sa détection.

La disparition de l'Ag HBe, et surtout l'apparition de l'anti-HBe, sont signe d'une évolution favorable ; les sangs Ag HBs+/anti-HBe+ sont en général peu ou non infectieux, avec toutefois des exceptions. Certains de ces sérums sont ADN+ et des maladies chroniques peuvent poursuivre leur évolution alors même que les sujets sont anti-HBe+. En routine, l'anti-HBe est recherché par technique ELISA.

La protéine de capsid (c) et l'antigène e sont codés par la même phase ouverte de lecture (préC/C) par initiation de la traduction à deux codons AUG en phase. Cependant, les deux antigènes ont des propriétés biologiques très différentes : la protéine c formera des dimères qui s'associeront pour constituer la nucléocapside tandis que l'antigène e sera processé et secrété. De nombreux variants du virus B portent des mutations ou des délétions dans les régions du gène C portant des épitopes B et T et pourraient ainsi échapper à la réponse immunitaire. Il a été montré de plus que des formes mutées ou partiellement tronquées de la protéine c modifiaient le processus répliatif viral intracellulaire. Les mutations les plus

fréquentes sont localisées dans la région pré-C qui code pour l'extrémité amino-terminale de l'antigène e [5]. Des mutations ponctuelles décrites dans la région terminale pré-C entraînent l'apparition d'un codon stop TAG. Ce codon stop empêche la transcription en continu de la région pré-C et du gène C. Ainsi, la traduction de l'Ag HBe ne s'effectue pas, bien que la répllication virale persiste. Il est possible que la protéine p22c ait une activité protéase participant au clivage et à la synthèse de la protéine p17 e (figure 7).

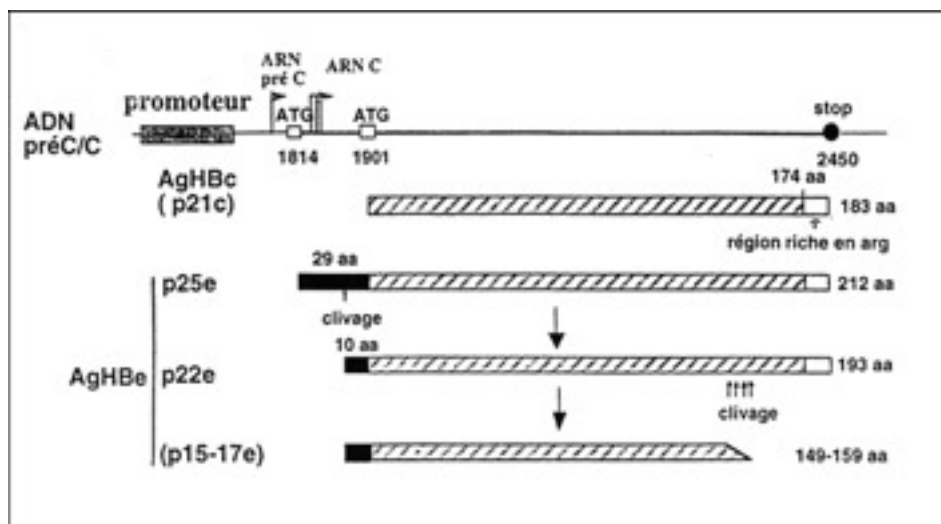


Figure 7 : Expression des antigènes HBc et HBe

II.2.4.- Le système protéine X/anti-HBx

Si la protéine X n'est pas retrouvée *in vivo* dans le sérum, les anticorps anti-HBx sont, en revanche, détectables chez près d'un tiers des patients qui ont été infectés par le VHB ; la même proportion se retrouve dans les formes chroniques [24]. Ce marqueur est indépendant de l'Ag HBs et du système Ag HBe/anti-HBe. Cette sérologie est plutôt réservée à quelques laboratoires spécialisés.

II.2.5.- Système polymérase/anti-pol

Cette polymérase n'est pas mise en évidence par ses propriétés antigéniques, mais par la mesure de son activité. Les anticorps anti-pol sont induits aux phases aiguës ou chroniques de la maladie. Ils sont retrouvés dans le sérum au cours des hépatites chroniques actives, des cirrhoses et des cirrhoses compliquées d'hépatocarcinome, mais ceci seulement chez un quart des patients porteurs asymptomatiques ou présentant une hépatite chronique persistante. Leur présence n'est pas corrélée avec l'activité ADN-polymérase ou avec les autres marqueurs réplicatifs. Très peu de laboratoires pratiquent la recherche des anti-pol.

II.2.6.- Protéine HBSP/anti-HBSP

La nouvelle protéine (*hepatitis B splice protein*) a été recherchée par différentes approches [55]. Un test ELISA a été développé, il a permis de démontrer l'existence d'anticorps chez environ 40 % des porteurs chroniques.

Après avoir décrit des couples de marqueurs théoriquement utilisables, il apparaît indispensable de hiérarchiser ceux-ci et de détailler un certain nombre de profils sérologiques rencontrés en fonction de différentes situations cliniques.

Avant d'envisager ces différents cas, il ne faut pas perdre de vue que parmi les marqueurs énumérés précédemment, on peut distinguer schématiquement les marqueurs de réplication virale (Ag HBs, Ag pré-S mais surtout Ag HBe, ADN-VHB, ADN polymérase), d'infection (anti-HBc), et enfin, de guérison (anti-HBs, anti-HBe, anti-pré-S).

Différents cas ou profils seront successivement envisagés.

■ III. PROFILS SÉROLOGIQUES DANS DIFFÉRENTS TABLEAUX CLINIQUES

III.1- Hépatites aiguës à évolution favorable

Après un délai moyen de un à trois mois suivant le contage, l'Ag HBs devient détectable dans le sérum. Cette présence précède parfois de deux à quatre semaines les signes biologiques (élévation des transaminases) ou cliniques (ictère). Il persiste en général un à deux mois. Son évolution est décalée par rapport aux transaminases qui peuvent redevenir normales plusieurs semaines avant sa disparition.

Les anti-HBc apparaissent deux à quatre semaines après l'Ag HBs (figure 8). Leur présence révèle une réponse de l'organisme à l'infection, mais n'a aucune signification évolutive. Ces anticorps se retrouvent dans la fraction IgM durant la primo-infection et leur existence peut se prolonger ; les IgM anti-HBc peuvent être détectées dans 70 % des cas, au bout d'un an.

La présence de l'Ag HBe signe la réplication virale ; il disparaît avant l'Ag HBs.

L'évolution favorable est annoncée par la normalisation des transaminases, par la disparition de l'Ag HBs, des Ag-préS1/S2 et de l'Ag HBe, enfin par l'apparition successive des anticorps anti-préS, anti-HBe et anti-HBs.

La recherche de marqueurs VHB au niveau du foie n'a aucun intérêt dans l'hépatite aiguë à VHB banale.

III.2- Hépatites fulminantes

Une distinction s'impose parmi les hépatites fulminantes à VHB, entre celles survenant au stade aigu de l'infection par le VHB (de 0,1 à 1 % des formes aiguës), avec ou sans co-infection par le virus de l'hépatite delta (VHD), et celles survenant chez des porteurs chroniques, dues à des réactivations spontanées ou chimio-induites ou à des surinfections par le VHD [19].

- Dans les hépatites fulminantes survenant dans un contexte d'hépatite B aiguë [2], la présence d'IgM anti-HBc à un titre élevé est quasi constante. L'Ag HBs est retrouvé dans 10 à 80 % des cas selon les séries et l'Ag HBe seulement dans 10 % des sérums. L'ADN-VHB est signalé, selon les publications, dans 10 à 30 % des cas et l'anti-HBs chez 20 à 30 % des

patients, avec souvent des titres faibles. La présence simultanée d'Ag HBs et d'anti-HBs dans des immun-complexes interviendrait dans la sévérité du tableau.

Les anticorps anti pré-S1 et pré-S2 apparaissent précocement et joueraient un rôle à la fois dans l'apparition de lésions hépatites sévères et dans la clairance précoce du virus, caractéristique de cette manifestation clinique, en signant la fin de la réplication virale. Quand l'ADN-VHB est présent lors de l'hospitalisation, il devient généralement indétectable dans la première semaine suivant l'apparition des symptômes.

- Dans les hépatites fulminantes survenant chez des porteurs chroniques, la détection des IgM anti-HBc est rare. Il faut, pour ces cas, éliminer systématiquement une participation du virus de l'hépatite D en recherchant l'Ag delta, l'IgM anti-delta et les anticorps IgG anti-delta.

Au stade aigu de la forme sévère, les antigènes viraux (Ag HBs, Ag HBc et le génome viral) ne sont habituellement pas détectés dans le foie.

Notons toutefois que les profils sérologiques varient selon les séries, les auteurs, l'âge des patients (adultes, enfants) et selon les zones géographiques.

III.3- Hépatites chroniques

Dans leur majorité, les hépatites aiguës sont spontanément résolutive avec apparition de marqueurs de guérison. Certaines d'entre elles (10 % chez l'adulte) évoluent néanmoins vers la chronicité. On parle d'hépatite chronique pour désigner les atteintes inflammatoires hépatiques évoluant sans amélioration pendant plus de six mois et de porteur chronique si le portage de l'Ag HBs excède cette durée.

On reconnaît deux formes d'hépatites chroniques avec ou sans signes d'activité sur l'examen anatomopathologique.

Les profils sérologiques révèlent une persistance de l'Ag HBs, de l'Ag HBe et des anti-HBc, les deux antigènes pouvant rester détectables en cas d'activité [50] durant plusieurs années, voire la vie entière. Parallèlement, les transaminases demeurent anormalement élevées (figure 8).

Occasionnellement, l'Ag HBe peut disparaître, phénomène suivi de l'apparition d'anti-HBe, réalisant la « première séroconversion » du porteur chronique ; celle-ci ne s'accompagne pas toujours d'une disparition de l'ADN-VHB circulant. À ce stade, le patient devient, en règle générale, porteur chronique de l'Ag HBs. On peut toutefois observer après plusieurs années la disparition de l'Ag HBs, voire même la détection à des taux faibles d'anti-HBs : c'est la « seconde séroconversion » rencontrée chez 5 à 10 % des porteurs chroniques. Chez ces patients, après une décroissance plus ou moins lente des IgM anti-HBc, les IgG anti-HBc persistent quasi indéfiniment. Il est à noter que l'absence d'Ag HBs ne permet pas d'éliminer le diagnostic d'hépatite chronique à VHB. La présence des marqueurs de réplication Ag HBe, ADN-VHB, ADN polymérase coïncide avec celle des signes biochimiques et histologiques d'une réplication virale active. L'ADN-VHB et l'ADN polymérase constituent donc des éléments essentiels pour la surveillance des thérapeutiques antivirales (interféron alpha, vidarabine...), thérapeutiques qui doivent être instituées très précocement, au stade Ag HBe+, avant l'intégration virale, et sans attendre le délai critique de six mois. En effet, dès qu'une réplication active du VHB se poursuit au-

delà de 6 semaines, le risque d'évolution vers la chronicité avoisine les 100 %. En conséquence, il est indispensable d'instituer une surveillance régulière pendant les deux premiers mois d'évolution de la maladie.

Le terme de porteurs chroniques asymptomatiques désigne des sujets présentant un portage prolongé de l'Ag HBs, à une concentration souvent modérée, sans qu'ils présentent des lésions hépatiques ou des anomalies biologiques (transaminases à un taux normal). Ces sujets présentent, en général, une séroconversion Ag HBe/anti-HBe relativement précoce. Certains d'entre eux peuvent présenter des anomalies modérées des fonctions hépatiques et des lésions du parenchyme hépatique sans manifestations cliniques apparentes ; ils doivent faire l'objet d'une surveillance identique mais moins rapprochée que celle des hépatites chroniques actives.

III.4.- Cancer primitif du foie (CPF) ou carcinome hépatocellulaire

Les CPF surviennent généralement plusieurs décennies après l'infection initiale.

La prévalence des marqueurs sériques VHB chez les malades présentant un CPF, varie d'un point géographique du globe à l'autre :

- en Asie et en Afrique Noire, 60 à 80 % des hépatomes sont Ag HBs + contre 5 à 15 % dans les groupes contrôles, et 80 à 90 % sont anti-HBc + contre 15 à 35 % chez les contrôles. Les anti-HBs sont rarement retrouvés (20 % dans une étude personnelle) [36] ;
- en Europe et aux USA, la proportion d'Ag HBs + est beaucoup plus faible ; ainsi en France, seulement 20 à 30 % des sujets sont Ag HBs +.

La recherche de marqueurs VHB au niveau des tumeurs montre une variabilité selon les pays. Aux Indes, l'Ag HBs et l'Ag HBc sont retrouvés respectivement dans 94 % et 22 % des tumeurs contre 2 % et 0 % chez les contrôles. Au Sénégal, nous avons trouvé l'Ag HBs dans 80 % et l'Ag HBc dans 20 % des CPF.

Pour certains auteurs, seules les tumeurs Ag HBs+ contiendraient de l'ADN-VHB ; pour d'autres, des tumeurs négatives pour l'Ag HBs pourraient être ADN+ surtout dans le cas de tumeurs associées à une cirrhose. En fait, il pourrait s'agir d'un problème de seuil de détection de l'ADN, car les tumeurs Ag HBs- contiendraient un nombre faible de copies (1 pour 10 à 1 pour 100 cellules) contre 100, 1 000 copies ou plus par cellule dans les tumeurs Ag HBs +. La PCR est alors d'un grand apport puisqu'elle permet à l'équipe de Bréchet de retrouver le génome dans 60 % des tumeurs Ag HBs-.

L'intégration génomique, événement fondamental pour le mécanisme de l'oncogénèse, est indépendante de la réplication virale. Dans le cas des hépadnavirus, elle se produit au niveau de différents chromosomes, s'accompagnant d'altérations et de réarrangements chromosomiques. Pour le VHB, une intégration a été signalée chez l'homme dans le gène du récepteur de l'acide rétinoïque et dans celui de la cycline A... Avec le virus de la marmotte, l'intégration se fait à proximité des oncogènes C-myc, et N-myc qui seraient activés.

■ IV. PROFILS SÉROLOGIQUES DANS DES CIRCONSTANCES PRÉCISES

V.1- Cas des nouveau-nés des mères Ag HBs+

Il est important de connaître la transmission mère-enfant des marqueurs de l'hépatite B [16]. Les enfants nés de mères ayant contracté antérieurement une infection par le VHB et guéries, c'est-à-dire qui sont anti-HBs + et anti-HBc+, naissent avec le même profil sérologique du fait de la transmission passive des anticorps d'origine maternelle, ces anticorps pouvant persister au-delà de six mois. Il semble que les anti-HBs disparaissent un peu avant les anti-HBc.

Les enfants nés de mères porteuses du virus, c'est-à-dire Ag HBs+ et anti-HBc+, naissent avec des IgG anti-HBc, mais jamais avec des IgM anti-HBc [22].

La contamination *in utero* est rare (inférieure à 10 %) et l'essentiel de la contamination est périnatal. Cette chronologie *in utero*/périnatale a été prouvée par la détection d'Ag HBs et/ou d'ADN-VHB chez l'enfant (par hybridation ou PCR) en vue d'un diagnostic précoce d'infection. L'évolution des marqueurs durant la première année de vie renseigne sur le devenir de l'enfant.

Le risque de transmission verticale est étroitement lié au profil sérologique de la mère et au pouvoir infectieux de son sang (tableau IV).

L'interprétation des sérologies des nourrissons nés de mères Ag HBs+, séro-vaccinés à la naissance, est parfois délicate.

Tableau IV : Risque de transmission néonatale du VHB en fonction du profil sérologique de la mère

Sérologie de la mère	Taux de la transmission
Ag HBs+, Ag HBe+/ADN+	95 à 100 %
Ag HBs+, anti-HBe+/ADN-	10 à 20 %
Ag HBs-, anti-HBs-, anti-HBc+	< 10 %

IV.2- Sujets vaccinés

Les sujets vaccinés répondeurs fabriquent des anti-HBs, les taux supérieurs à 10 UI/l étant considérés comme protecteurs. Si, de plus, les vaccins contiennent de l'Ag HBs et de l'antigène pré-S, il est possible de détecter des anti-prés en plus des anti-HBs, et ce, plus précocement. Connaissant le titre des anti-HBs après la vaccination, on peut prédire l'évolution de ce titre dans le temps et donc en déduire la date du deuxième rappel vaccinal.

Si le sujet vacciné et répondeur se trouve en contact avec une souche de VHB, on peut, ou bien n'observer aucune modification du profil sérologique, ou bien constater une montée « anamnétique » du titre des anti-HBs, ou bien encore, après une phase d'antigénémie HBs très transitoire, assister à une apparition d'anti-HBc avec un profil anti-HBs+, anti-HBc+ avec ré-ascension du titre des anti-HBs.

Rappelons pour mémoire que dans les jours qui suivent la vaccination, il est possible de détecter transitoirement dans le sérum de l'Ag HBs vaccinal [33b].

IV.3- Sujets recevant des immunoglobulines

Les patients peuvent recevoir des immunoglobulines :

- spécifiques anti-HBs dans un contexte de prophylaxie spécifique VHB, seules ou en association avec le vaccin sous forme de séro-vaccination ;
- polyvalentes ou autres (antitétaniques...).

Selon le mode de préparation, les immunoglobulines spécifiques anti-HBs sont administrables soit par voie intramusculaire, soit par voie intraveineuse. Si après administration I.V., les concentrations sériques sont atteintes d'emblée, après injection I.M., le pic de recirculation n'est atteint qu'au bout de plusieurs jours ; toutefois, dès la 24^e heure, le taux circulant est protecteur.

La demi-vie des anticorps *in vivo* est de vingt et un jours [11]. Le plus souvent, après une seule injection I.M. (500 UI pour les adultes, 100 UI pour les enfants), le taux protecteur se maintient durant deux mois.

Les immunoglobulines polyvalentes ne contiennent pas un titre d'anti-HBs suffisant pour être protecteur, mais l'injection de telles immunoglobulines peut entraîner des profils gênant l'interprétation sérologique avec anti-HBs et/ou anti-HBc transitoires.

IV.4- Sujets immunodéprimés

Les évolutions de profils sérologiques VHB chez les sujets infectés par le virus du SIDA (VIH), commencent à être mieux analysées. On peut observer chez des sujets VIH+ qui ont présenté antérieurement une hépatite B guérie (Ag HBs-, anti-HBs+, anti-HBc+) la disparition des anti-HBs, suivie de l'apparition d'un Ag HBs détectable. Il peut s'agir soit de la réactivation de la souche initiale de VHB masquée, soit d'une réinfection par une autre souche de VHB. Chez les sujets présentant d'autres causes d'immunodépression, chez les hémodialysés et chez les greffés vaccinés ou non, l'analyse séquentielle des profils sérologiques est souvent délicate (titre d'anticorps bas, Ag HBs et anti-HBs détectés irrégulièrement).

■ V. PROFILS PARTICULIERS

V.1- Liés à des variants [28]

- Des mutations des régions pré-S et S, pré-C et C du génome du VHB peuvent être à l'origine de profils sérologiques atypiques chez les sujets présentant des hépatites aiguës ou chroniques. Ces variants seraient plus fréquents en Afrique et en Europe du Sud, qu'en Europe du Nord. Les mutations pré-C/C sont responsables chez des patients Ag HBs+ de profils, Ag HBe-, anti-HBe+/-, ADN/VHB+. Des mutations pré-S/S peuvent entraîner des profils Ag HBs- avec des réactifs utilisant des anticorps polyclonaux, alors que l'Ag HBs

serait éventuellement détectable avec les trousse à base d'anticorps monoclonaux et que l'ADN-VHB est détectable [28].

Enfin, il existe des hépatites B séronégatives (Ag HBs-, anti-HBs-, anti-HBc-). Seule la recherche d'ADN-VHB permet, chez les patients porteurs de ce type d'hépatite, de rattacher la symptomatologie au VHB. Avant d'incriminer un variant, il faut bien sûr éliminer toute autre cause d'hépatite, tant virale (virus des hépatites A, C, virus du groupe herpès, et, en fonction des origines géographiques, arbovirus...), que microbienne ou d'origine toxique.

V.2- Liés à la cinétique

Beaucoup de profils sérologiques peuvent être assez facilement interprétés avec les courbes cinétiques (figures 8A et 8B) ou à l'aide du tableau récapitulatif simplifié (tableau V). Toutefois, certains cas particuliers méritent un court développement.

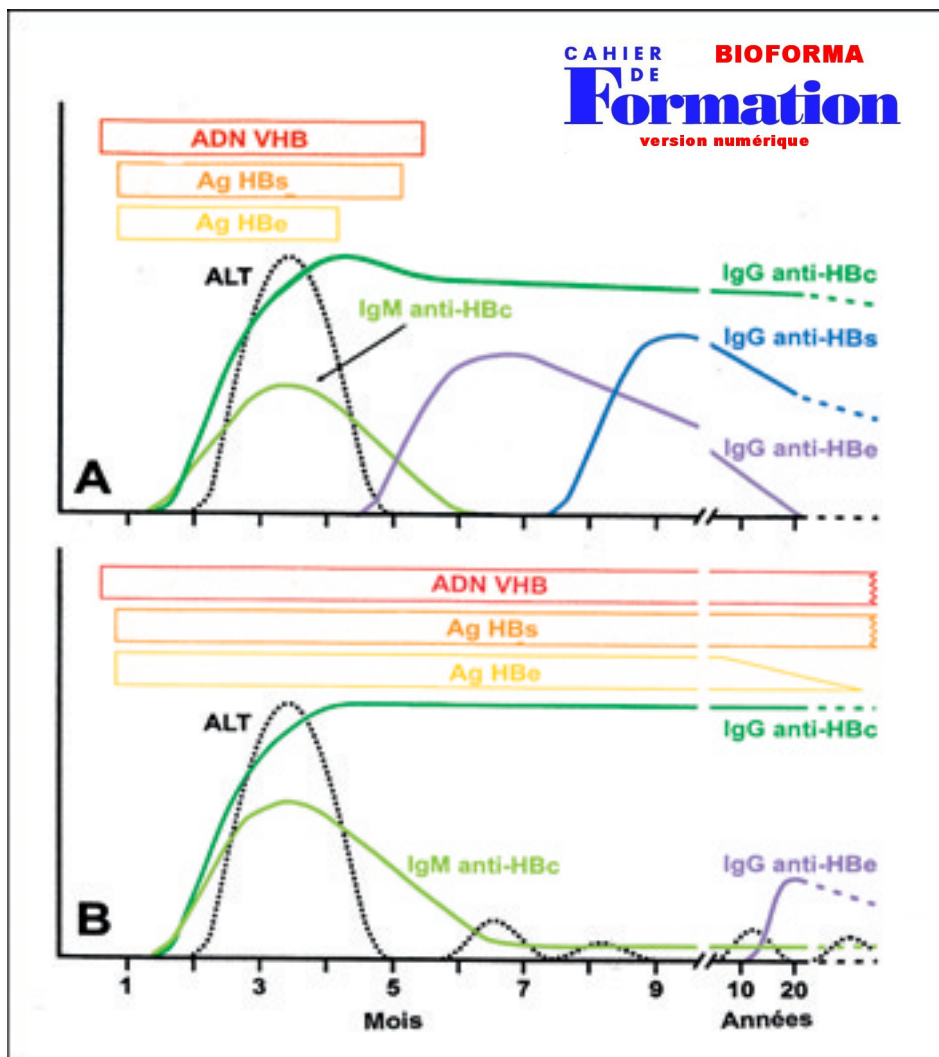


Figure 8 : Cinétique des marqueurs au cours des infections dues au virus de l'hépatite B avec guérison (A) ou évolution vers la chronicité (B)

V.2.1- Ag HBs isolés

Il peut s'agir d'une hépatite B prise au tout début et, dans ce cas, une nouvelle sérologie pratiquée quinze jours plus tard devrait permettre de déceler d'autres marqueurs (Ag HBe, IgM anti-HBc, etc...). Il convient d'interroger le patient sur l'existence d'une vaccination contre l'hépatite B, car des antigénémies Ag HBs post-vaccinales ont été signalées. Enfin, une fausse réactivité Ag HBs peut être évoquée et il faut alors vérifier la spécificité du test

Tableau V : Interprétation des marqueurs sérologiques du VHB
(d'après Maniez-Montreuil) [33a]

Ag HBs	Ag HBe	HBe	Ac anti-HBc IgM	Ac anti-HBc IgG	HBs	Interprétation	Attention
+	+/-	-	-	-	-	Incubation. Quelques rares porteurs chroniques HBs immuno-incompétents Ag HBs post-vaccinal	À confirmer
++	+	-	++	-	-	Phase aiguë	
+/-	-	-	++	-	-	Phase aiguë résolutive	
-	-	+	+/-	++	-	Convalescence	
-	-	+	-	++	+	Guérison : contamination récente	} S'il s'agit d'un nourrisson : } Ac maternels
-	-	-	-	+	+	Guérison : contamination ancienne Injection d'immunoglobulines spécifiques anti-HBs	
-	-	-	-	+	-	Guérison : contamination ancienne Convalescence Porteurs chroniques HBs à taux indélectable	} À confirmer par un autre réactif }
-	-	-	-	-	+	Guérison : contamination ancienne Vaccination contre l'hépatite B Injection d'immunoglobulines spécifiques anti-HBs	} À confirmer }
++	+	-	-	++	-	Porteur chronique en phase répliquative (ADN-VHB+)	} Certains possèdent une composante anti-HBc de type IgM
+	-	+	-	++	-	Porteur chronique. Génome viral intégré, peu (ADN-VHB+) ou pas de réplication (ADN-VHB-)	} Variants HBV possible (ADN-VHB+)

Attention : quelques rares sujets possèdent chroniquement l'Ag HBs et l'anti-HBs (souvent associés à l'Ag HBe). Devant tout résultat dont le signal est faible, attention aux contaminations ; nouveau-né : attention à la contamination par le sang de la mère dans le cas d'un prélèvement au cordon ; plusieurs marqueurs coexistent souvent et peuvent donc se « confirmer » mutuellement, mais si un marqueur est retrouvé « isolé » attention aux faux positifs : le confirmer alors, quand cela est possible, par neutralisation ; sinon à l'aide d'un deuxième réactif.

en procédant à une neutralisation de l'Ag HBs à l'aide de réactifs commercialisés utilisant un anticorps anti-HBs.

V.2.2- Anti-HBc isolés

Ce profil se retrouve dans les infections récentes après disparition de l'Ag HBs et avant l'apparition des anti-HBs, la recherche des IgM anti-HBc étant alors positive. Il peut aussi être observé lors d'hépatites anciennes ; la recherche d'IgM anti-HBc est alors négative. Ce fait peut concerner des sujets guéris (figure 9), les anti-HBs ayant disparu, ou éventuellement des sujets atteints de formes chroniques. Il existe enfin des fausses réactions positives anti-HBc par présence de complexes immuns, de dysglobulinémie, etc...

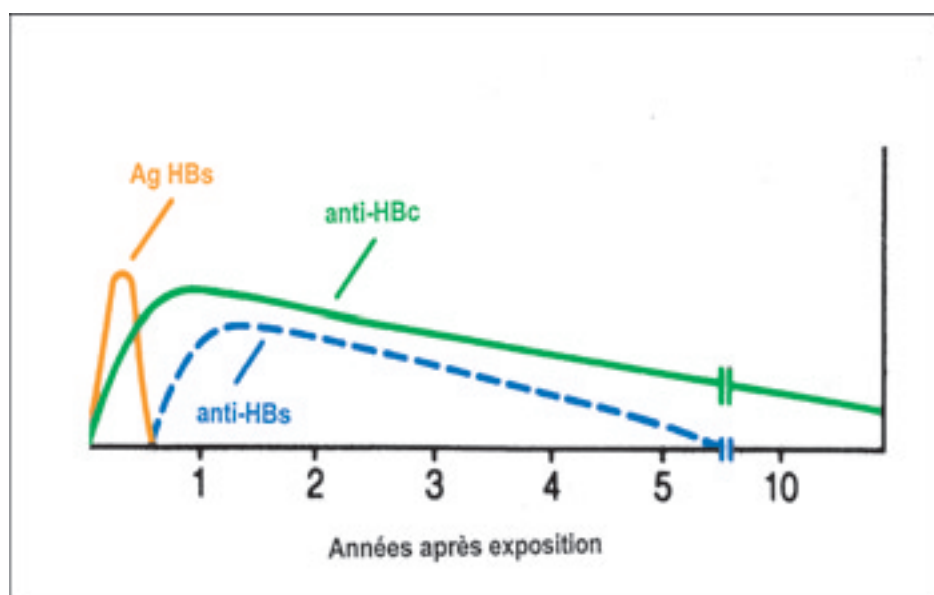


Figure 9 : Persistance des anticorps anti-HBs et anti-HBc au cours du temps après infection par le virus de l'hépatite B d'évolution favorable

■ VI. DÉMARCHES SÉROLOGIQUES PRATIQUES

En dehors des investigations sérologiques conduites chez un sujet présentant ou ayant présenté une hépatite, cas dans lequel on commence par rechercher les marqueurs Ag HBs, anti-HBs, anti-HBc puis, si l'Ag HBs est positif, les marqueurs Ag HBe, anti-HBe, ADN-VHB, on peut être amené à réaliser des recherches dans un contexte particulier. Ainsi, nous avons schématisé les investigations à pratiquer en première intention ou en cascade : lors de dépistages (tableau VI), chez les femmes enceintes (tableau VII), ou bien lors de vaccinations contre l'hépatite B (tableau VIII). Les options retenues, bien qu'indicatives, sont susceptibles d'aider les prescriptions et de contribuer au choix d'examen alliant efficacité et moindre coût.

On peut proposer un arbre décisionnel regroupant les différents paramètres viraux de l'infection à VHB (figure 10).

Tableau VI : Tests VHB pratiqués lors des dépistages

GROUPES	TESTS DE PREMIÈRE INTENTION
Dons du sang	Ag HBs, anti-HBc
Dons d'organe et de tissus	Ag HBs + anti-HBc (+ anti-HBs)
Femmes enceintes	Ag HBs
Bilan pré-vaccinal	Anti-HBc
Bilan post-vaccinal	Anti-HBs (titrage)

Tableau VII : Démarche utilisée pour le screening des marqueurs VHB chez les femmes enceintes

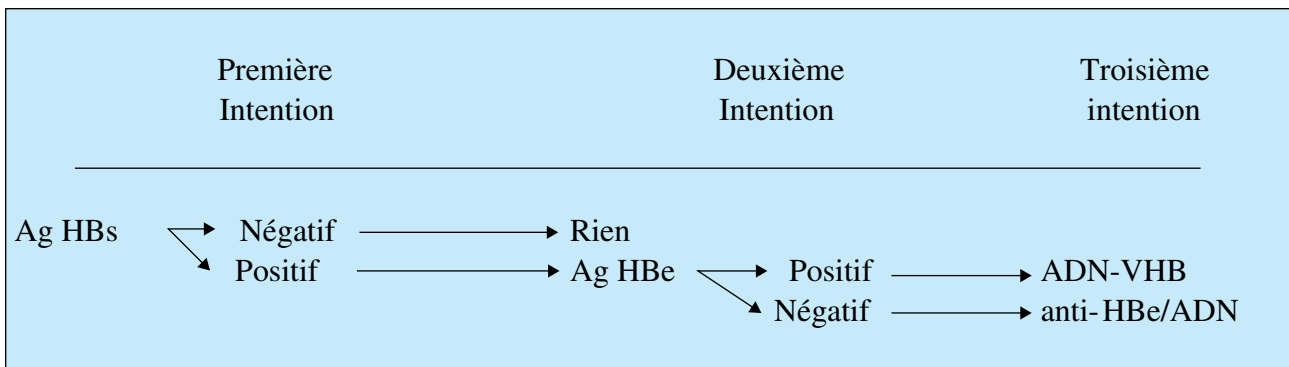
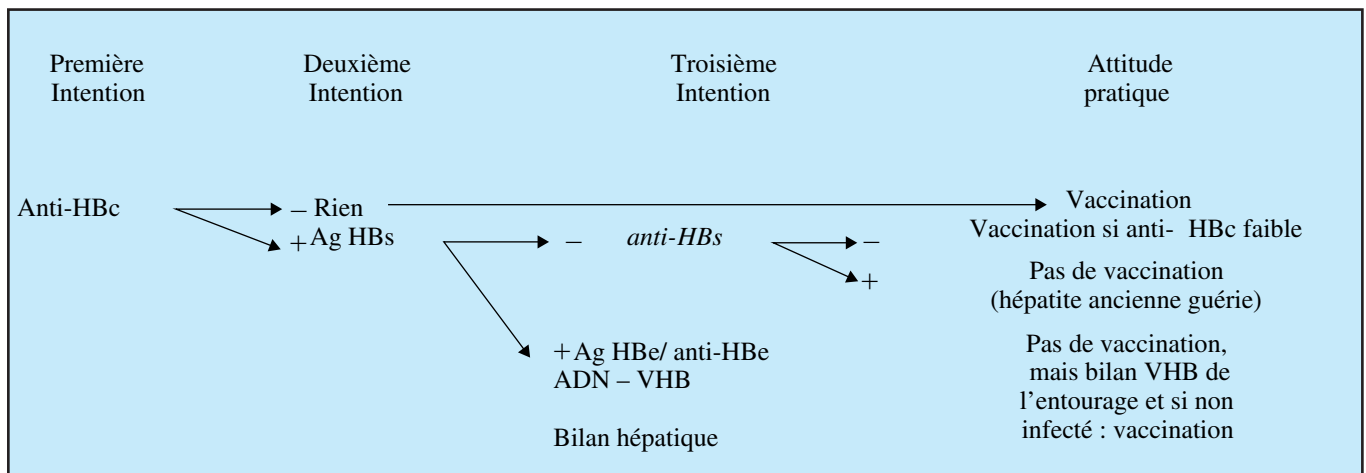


Tableau VIII : Démarche utilisée lors du bilan VHB précédant la vaccination spécifique



■ VII. ÉPIDÉMIOLOGIE

VII.1- Source virale

Le virus de l'hépatite B est présent dans de nombreux liquides ou sécrétions des individus infectés, cette large diffusion du virus dans l'organisme et les concentrations virales sou-

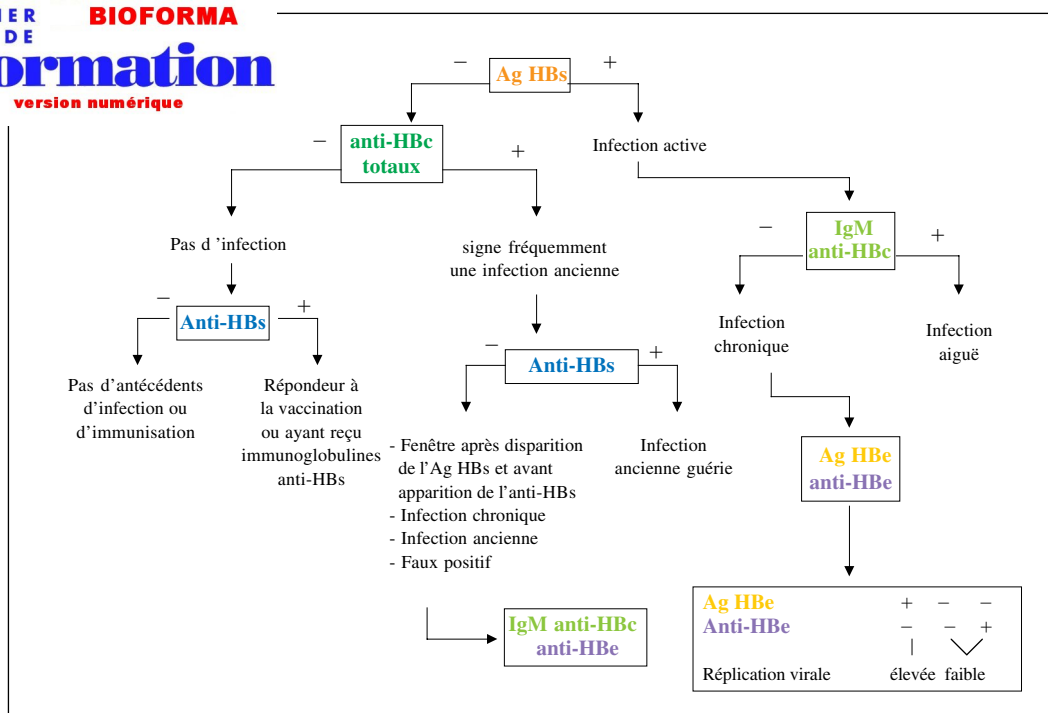


Figure 10 : Algorithme du diagnostic sérologique de l'hépatite B

Tableau IX : Modalités de transmission du VHB

Verticale	Horizontale
Mère-enfant	Enfant-enfant Famille Personnes à personnes
Parentérale	Sexuelle
Transfusion Produits dérivés du sang (avant 87) Activité professionnelle Soins sans matériel à usage unique Toxicomanie Tatouage, Piercing	Homosexuelle Hétérosexuelle ...
Nosocomiale	
Accidents d'exposition au sang	

vent élevées permettent de rendre compte des modalités de transmission du VHB (tableau IX) [20].

Dans le sang, la charge virale peut atteindre 10^8 - 10^9 virus par ml, celle des billes d'Ag HBs 10^{13} /ml.

Les expositions au sang constituent donc un mode majeur de transmission ; de même, l'échange de matériel contaminé (seringues, aiguilles) entre drogués par voie intraveineuse serait responsable d'un quart des cas d'hépatite B en Occident, sans omettre le risque de transmission horizontale par contact avec des plaies. Le risque lié à des soins mal contrôlés (tatouage, piercing, maquillage permanent) ne saurait être sous-estimé.

Le risque transfusionnel reste, après exclusion du don des sujets porteurs de l'Ag HBs et/ou de l'anti-HBc et/ou présentant des transaminases élevées, extrêmement faible en France. Le risque résiduel lié au VHB serait en France de 15,4 dons/2,7 millions de dons par an ; il pourrait encore être réduit avec l'instauration du dépistage de l'ADN du VHB chez tous les donneurs (7 dons/an). Mais il faut attirer l'attention sur le fait que dans bon nombre de pays de la planète les sangs transfusés ne sont pas testés pour l'hépatite B.

Les dérivés stables, issus du fonctionnement du plasma, sont inactivés et ne transmettent plus le VHB depuis 1987.

Le virus est également présent dans le sperme, les sécrétions génitales (10^6 - 10^7 virions/ml), ce qui explique le risque de transmission vénérienne (responsable d'un tiers des cas d'hépatites B), mais aussi dans la salive (10^5 - 10^7 virions par ml). La contagiosité de la salive ne peut être contestée [63] puisque le VHB est présent dans la salive de 76 % des patients atteints d'hépatite B aiguë et de 86 à 88 % de ceux atteints d'hépatite B chronique ; ce vecteur pourrait jouer un rôle dans la transmission à la faveur de contacts humains étroits en l'absence de transmission parentérale et sexuelle ; cette modalité ne peut être niée même si elle fait l'objet de polémiques.

Enfin, le virus est présent dans le lait, les urines, les larmes, les selles...

Le risque d'infection lié à une piqûre ou un objet souillé est de 20 % à 30 % et celui d'une transmission sexuelle de 30 % à 80 %. On considère que la contagiosité sanguine du VHB est 10 fois supérieure à celle du VHC et 100 fois plus élevée que celle du VIH.

À noter que dans les pays riches, près d'un tiers des infections par le VHB ont une origine non expliquée, le taux est encore plus élevé dans les pays en développement pour lesquels la transmission horizontale constitue un mode majeur de transmission notamment chez l'enfant.

La transmission de la mère à l'enfant intervient également pour une part importante dans la transmission dans ces mêmes pays.

La transmission *in utero* est très faible (5 % des transmissions verticales) [22], la majeure partie des transmissions verticales se produisent lors de l'accouchement avec un taux de transmission variable selon que la mère porte ou non des marqueurs de réplication du virus (Ag HBe+/ADN+), 90 % à 100 % s'ils sont présents contre 10-20 % s'ils sont absents. La contamination peut aussi être post-natale, le lait de mères porteuses du virus contenant du virus [16].

VII.2- Épidémiologie mondiale

L'OMS distingue actuellement à la surface du globe trois situations épidémiologiques évaluées d'après le taux de portage chronique de l'antigène HBs dans la population adulte :

- zone de faible endémie (< 2 % d'Ag HBs) : Australie, Amérique du Nord, Europe de l'Ouest ;
- zone de moyenne endémie (2 % à 7 % d'Ag HBs) : Europe de l'Est, Union Soviétique et ex URSS, pays méditerranéens et Proche-Orient ;
- zone de haute endémie (8 % à 20 % d'Ag HBs) : Afrique sub-saharienne, Asie du Sud-Est, Chine méridionale, certains pays de l'Europe de l'Est.

En général, l'incidence de la maladie est inversement proportionnelle au niveau socio-économique.

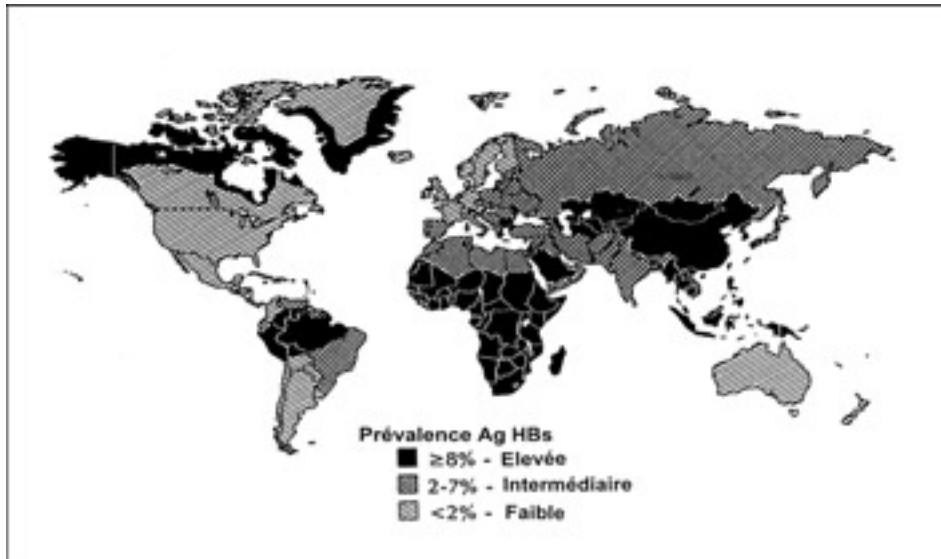


Figure 11 : Répartition géographique mondiale de la prévalence de l'Ag HBs

Il existe en Europe un gradient Nord-Sud, les pays nordiques étant moins touchés que le pourtour méditerranéen.

Des cartes permettent de classer les continents en fonction du portage de l'Ag HBs (figure 11). On considère qu'il y a sur la planète 200 à 350 millions de porteurs chroniques.

VII.3- Épidémiologie en France

On considère qu'il y a environ 100 000 cas d'hépatites B en France par an, que 5 % à 10 % de la population rencontre le virus au cours de sa vie. Le pic optimal des hépatites B se situe, tant chez l'homme que la femme, dans la tranche des 15-24 ans.

Les enquêtes réalisées chez les donneurs de sang (0,1 % chez les nouveaux donneurs) sous-estiment la prévalence par rapport à celle retrouvée dans la population générale. En France, le taux de portage dans la population générale adulte est de l'ordre de 0,3 % contre 0,1 % en Grande-Bretagne, 0,2 % en Hollande, 2-3 % en Italie-Espagne, 5 % en Grèce [13].

Chez les femmes enceintes, la prévalence de l'Ag HBs a fait l'objet de plusieurs études. Dans l'enquête multicentrique nationale menée en 1992, nous avons trouvé une prévalence de l'Ag HBs de 0,15 % pour les femmes d'origine française et 2,6 % pour les femmes d'origine étrangère [16].

Le chiffre le plus élevé étant retrouvé chez les femmes enceintes originaires d'Asie (5,6 %), puis d'Afrique noire (4,9 %), l'Afrique du Nord arrivant beaucoup plus loin (1,7 %). Les femmes originaires des DOM-TOM avaient un taux de portage allant de 2,8 % à 4,5 % selon les études.

Cette composition « géographique » de la population a non seulement une incidence sur la séroprévalence (le plus souvent la séroprévalence observée est voisine de celle du pays d'origine), mais aussi sur la virémie et donc sur le taux de transmission.

La transmission mère-enfant est très importante pour certains continents ou zones géographiques (Afrique sub-saharienne, Asie, Caraïbes), mais elle n'est pas négligeable en France. En effet, dans notre pays, en l'absence de mesures préventives naîtraient chaque année entre 800 et 1 500 nouveau-nés porteurs chroniques.

On peut estimer qu'actuellement, en France, comme aux États-Unis, la toxicomanie est à l'origine de 23 % des contaminations, la transmission vénérienne serait responsable de 34 % des infections (hétérosexuelle 26 %, homosexuelle 8 %), les autres modalités arrivant avec des fréquences moindres [13, 18].

Le risque transfusionnel résiduel est devenu quasi-nul (1 pour 475 000 dons dans la période 1997-99) ; de même que les hépatites B professionnelles qui ont quasiment disparu grâce à la vaccination entreprise depuis 1981 pour tous les professionnels de santé.

■ VIII. PATHOLOGIE

Le virus étant peu cytotoxique, c'est l'intensité variable du conflit entre l'agresseur et les défenses immunitaires qui va déterminer la gravité de l'infection et le polymorphisme de l'hépatite B. Les défenses immunitaires mettent en jeu deux mécanismes : les lymphocytes T qui attaquent et détruisent des cellules malades, les lymphocytes B qui synthétisent les anticorps spécifiques neutralisant les virus circulants. On peut distinguer schématiquement plusieurs modalités évolutives chez l'adulte immuno-compétent, chez les nouveau-nés et les jeunes enfants (figures 12 et 13). Rappelons que l'incubation est longue, en moyenne de 10 semaines (6 semaines à 5 mois).

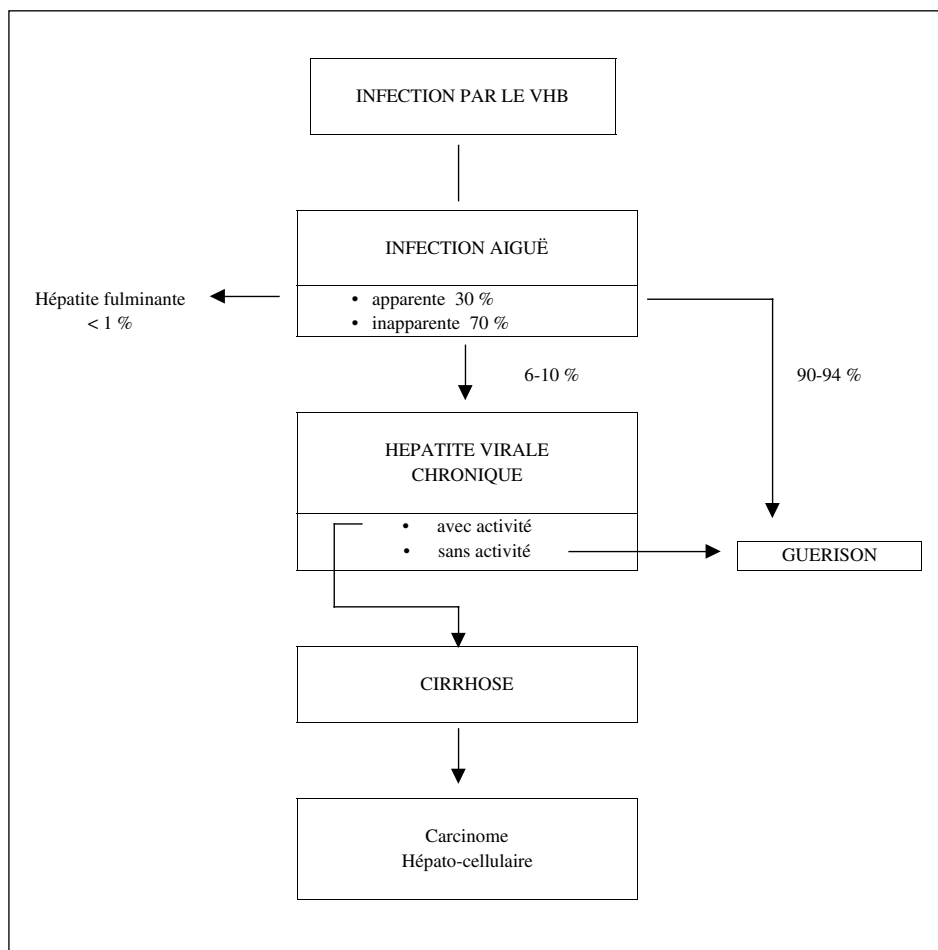


Figure 12 : Histoire naturelle de l'hépatite B chez les adultes immunocompétents

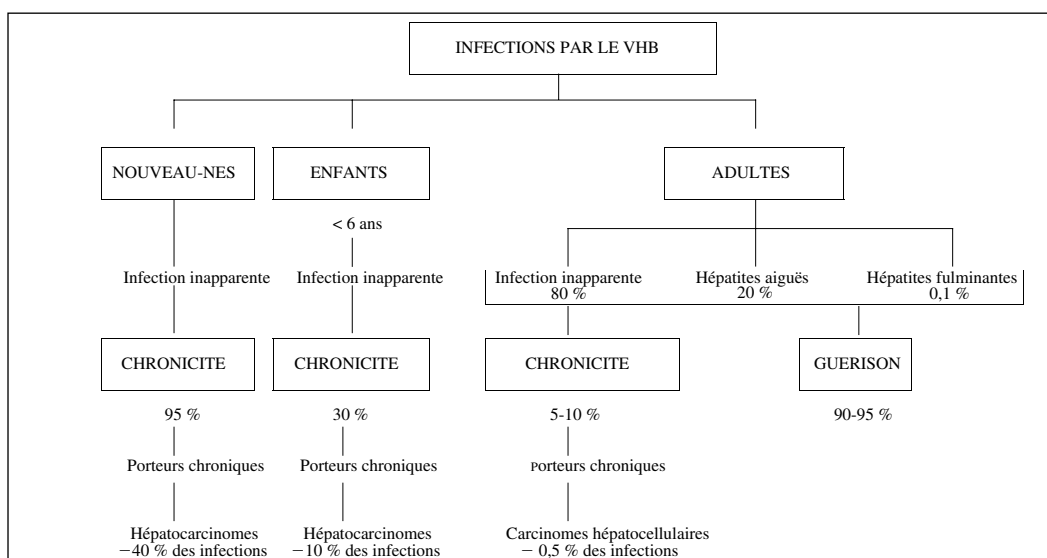


Figure 13 : Histoire naturelle des infections par le virus de l'hépatite B en fonction de l'âge

VIII.1- Premier cas : la réaction immunitaire est vigoureuse mais mesurée

Le plus souvent l'événement est si discret que, dans 80 % à 90 % des cas, il n'est pas reconnu. C'est l'hépatite asymptomatique, les infections symptomatiques s'accompagnant d'ictère et d'élévation des transaminases. Les hépatites aiguës B ressemblent aux autres hépatites virales. Après une phase préictérique insidieuse (asthénie, nausées, anorexie) de 3 à 7 jours, survient la phase ictérique précédée par l'apparition d'urines foncées et l'aggravation des symptômes (asthénie, anorexie) avant que l'ictère survienne. Il se prolonge 2 à 3 semaines. Mais les symptômes sont souvent inapparents et une hépatite B aiguë doit être recherchée systématiquement devant différents symptômes (syndrome grippal, troubles digestifs, céphalées, prurit, urticaire, arthralgie...). Après la phase aiguë, parlante avec ictère ou trompeuse, la phase de convalescence comporte la disparition de l'ictère puis de l'anorexie et de l'asthénie... La guérison clinique doit s'accompagner d'un contrôle de la guérison virologique.

Une fois sur mille, le conflit antigène-anticorps est trop violent. Toutes les cellules hépatiques sont atteintes et détruites [54]. C'est l'hépatite fulminante qui nécessite une hospitalisation d'extrême urgence [2].

VIII.2- Second cas : la réaction de défense est incomplète ou inadaptée

La production de virus continue régulièrement, entraînant la destruction progressive du tissu hépatique. C'est l'hépatite chronique qui est le plus souvent asymptomatique. L'évolution vers la chronicité est étroitement liée à l'âge auquel est contractée l'hépatite B : très élevée si la contamination se produit à la naissance voisine de 90 %, elle se situe vers 6 % à 10 % à l'âge adulte, plus fréquemment si celui-ci est immuno-incompétent (tableau X).

Les mécanismes d'établissement de la chronicité sont complexes et font probablement intervenir l'immaturation de certains effecteurs du système immunitaire, dont le système interféron de l'enfant, et une immunomodulation par les Ag HBe. L'Ag HBe est une protéine soluble de bas poids moléculaire qui traverse le placenta et qui pourrait induire une

Tableau X : Taux d'évolution vers la chronicité après infection par le VHB en fonction de l'âge et de l'état de compétence immunitaire

Population	Taux d'évolution vers la chronicité
■ JEUNES	
• Nouveau-nés	90 %
• Enfants	
■ 0-6 mois	70 %
■ 7-12 mois	50 %
■ 1-4 ans	30 %
■ ADULTES	
• Immunocompétents	6-10 %
• Hémodialysés	43 %
• Diabétiques	45 %

tolérance du système immunitaire vis-à-vis des antigènes de capsidie qui représentent la cible de l'élimination immune des hépatocytes infectés [40].

Après quelques mois, les trois quarts de ces formes sont spontanément résolutive et deviennent des hépatites chroniques persistantes. En revanche, les hépatites chroniques actives s'accompagnent d'une destruction massive des cellules. Progressivement, les cellules détruites sont remplacées par du tissu cicatriciel et l'hépatite évolue vers la cirrhose. Il n'est pas rare que la maladie ne soit découverte qu'au stade d'hépatomégalie, de cirrhose, lors d'une complication (ascite, ictère ou hémorragie digestive). À un stade tardif, on retrouve des signes cliniques d'insuffisance hépatocellulaire ou d'hypertension portale. Le foie ne remplit plus son rôle de synthèse et d'épuration, aboutissant ainsi à la mort du malade. Enfin, à long terme, certaines cellules peuvent se transformer et initialiser un cancer primitif du foie.

VIII.3- Le carcinome hépatocellulaire ou CHC représente environ 80 à 90 % des cancers primitifs du foie ; il se développe à partir des hépatocytes.

En France, il apparaît sur une cirrhose préexistante plus de 9 fois sur 10 avec une incidence annuelle de 2,5 à 5 % environ chez les cirrhotiques.

Il survient le plus souvent chez l'homme (80 %) ; il représente la huitième cause de tumeurs dans le monde.

Le diagnostic est évoqué soit devant la découverte fortuite d'une image nodulaire à l'échographie dans le cadre de la surveillance systématique d'une cirrhose, soit devant un signe clinique (douleur de l'hypocondre droit, ascite, altération de l'état général), soit devant une élévation de l' α -foetoprotéine au-dessus de 500 ng.

En France, on retrouve des marqueurs VHB chez 43 % des patients présentant un hépatocarcinome et chez 58 % de ceux constituant un hépatocarcinome sur cirrhose alcoolique.

- On considère que sur 100 000 personnes infectées, il y aura environ 450 cas de CPF et que près de 25 % des cirrhoses à VHB évoluent vers le CPF ; la latence entre infection et CPF allant de 20 à 50 ans.

- Le lien entre VHB et CPF a été établi dans un premier temps sur des arguments épidémiologiques (superposition des zones à forte prévalence d'Ag HBs et CPF), puis sur des arguments virologiques, sérologiques tout d'abord, puis génomiques. Il en a été parlé antérieurement.

- Les mécanismes de l'oncogénèse commencent à être mieux compris (figure 14). On peut incriminer [52, 59] :

- ◆ la cirrhose qui, par l'intermédiaire de ses nodules de régénération, implique une prolifération accrue des hépatocytes et un risque de réaménagement chromosomique ;
- ◆ un effet direct du VHB.

L'intégration de l'ADN viral (clonale ou dans plusieurs sites) permet au génome de persister alors même que la réplication s'est arrêtée (au stade cirrhose ou CPF), mais peut aussi entraîner une mutagénèse par insertion (intégration dans les tumeurs de marmottes de l'ADN dans 50 % des cas dans les gènes C-myc et N-myc, dans les tumeurs humaines dans les gènes du récepteur bêta de l'acide rétinoïque, de la cycline A, de la mevalonate kinase), voire des réarrangements chromosomiques. Par ailleurs, deux protéines virales : la protéine X essentiellement, les protéines Pré S/S à un degré moindre, auraient un effet d'activation en « trans » de certains oncogènes cellulaires. La protéine X pourrait se lier à des protéines régulatrices cellulaires notamment la protéine p53.

À noter que le fait que le modèle de marmotte peut être instructif puisque cet animal peut développer un cancer du foie (17 à 36 mois) après infection par le virus de la marmotte (WHV) qui est un *hepadnaviridae*. On dispose aussi d'autres modèles, écureuil mais aussi souris transgéniques.

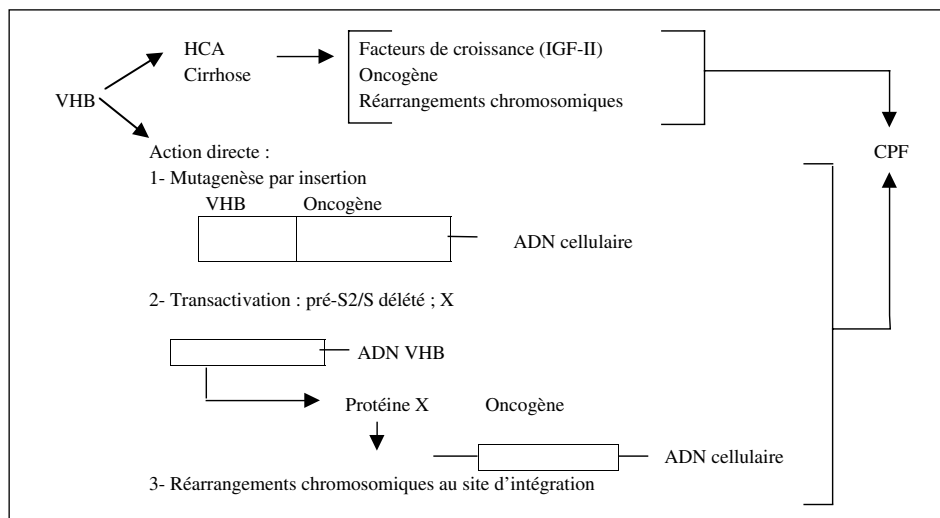


Figure 14 : Mécanisme de l'oncogénèse du VHB (d'après Rosmorduc et al) [52]

IX. ANATOMOPATHOLOGIE

IX.1- La ponction biopsie hépatique

La ponction biopsie hépatique (PBH) permet seule de porter le diagnostic de certitude d'une hépatopathie virale, d'en préciser l'activité et d'apprécier l'efficacité des thérapeutiques antivirales.

Il s'agit d'un geste invasif comportant certains risques qui sont minimisés si la PBH est pratiquée par un médecin expérimenté, après un contrôle des tests de coagulation et une échographie. La technique est dépendante de l'échographie abdominale, de la numération plaquettaire et des tests d'hémostase [48].

Le plus souvent, la PBH est pratiquée par voie intercostale à l'aveugle, on utilise parfois une PBH par voie intraveineuse avec cathétérisme sélectif de la veine jugulaire interne, de la veine cave, puis des veines sushépatiques, qui permet de ramener un fragment hépatique sans perforation de la capsule du foie.

Ce geste technique est assez bénin même si des complications surviennent dans 0,5 % à 5 % des biopsies. La mortalité imputable à la biopsie hépatique est de l'ordre de 0,05 %.

La PBH est un geste performant puisqu'elle permet d'obtenir un fragment suffisant dans plus de 99 % des cas.

Nous ne parlerons pas des aspects anatomopathologiques observés dans les hépatites aiguës, les hépatites fulminantes ou les carcinomes hépatocellulaires, mais nous nous limiterons aux hépatites chroniques.

L'analyse du fragment de biopsie permet d'établir un score d'activité de l'hépatite chronique.

IX.2- Lésions définissant une hépatite chronique [48, 51]

Trois lésions élémentaires principales définissent une hépatite chronique et permettent son classement.

IX.2.1- L'infiltrat inflammatoire

Il prédomine dans l'espace porte et dans la zone périportale, mais peut aussi s'observer dans les lobules. Il est essentiellement lymphocytaire.

IX.2.2- La nécrose hépatocytaire

Son intensité et sa topographie doivent être précisées.

- Le corps acidophile (corps de Councilman) est caractérisé par une condensation éosinophile du cytoplasme avec ou sans disparition du noyau. Il correspond à un hépatocyte en apoptose.
- La nécrose focale est la nécrose d'un petit groupe d'hépatocytes avec ou sans inflammation.
- La nécrose confluyente représente un groupe important d'hépatocytes voisins nécrosés. Elle peut être systématisée à une région du lobule.
- La nécrose périportale (nécrose parcellaire ou piece meal necrosis) est définie par la nécrose d'un ou de quelques hépatocytes situés au niveau de la lame bordante. Cette nécrose est entourée de lymphocytes. La présence d'un amas de lymphocytes au contact de la lame bordante, sans nécrose hépatocytaire visible, peut également traduire une nécrose périportale (hépatite d'interface).

- La nécrose en pont (*bridging necrosis*) est une nécrose confluyente systématisée d'un vaisseau à un autre (le plus souvent entre une veine centrolobulaire et une veine porte). La nécrose en pont est habituellement représentée par un foyer de collapsus dans lequel les hépatocytes nécrosés ont disparu et où il ne persiste que la trame réticulinique contenant des cellules inflammatoires (macrophages contenant des pigments et rares lymphocytes).
- La ballonnisation est une augmentation de taille avec une clarification du cytoplasme des hépatocytes. Elle pourrait être réversible et ne correspondrait donc pas à une nécrose.

IX.2.3- La fibrose

À point de départ portal, elle est plus ou moins étendue dans le lobule. Si elle est extensive et réunit des structures vasculaires, il s'agit de septa fibreux. Il est important d'apprécier le nombre de septa dans une biopsie. Il peut être difficile de différencier un septum d'une nécrose en pont : dans un septum, le collagène est dense, il existe parfois une prolifération cholangiolaire et l'infiltrat est généralement lymphocytaire.

La cirrhose est la conséquence de la mutilation hépatique par des septa fibreux annulaires entourant des nodules hépatocytaires.

IX.3- Classification des hépatites chroniques

Différents scores d'activité (grade) et de fibrose (stade) ont été proposés, score de Knodell, score de Scheuer, score d'Ishak...

Le score Metavir a été proposé en 1994, il s'agit d'une classification simple, validée et reproductible qui a fait l'objet d'une validation intra et inter observateurs [51].

Il est suffisant dans la pratique quotidienne, facile à appréhender par les cliniciens et utile pour la décision thérapeutique. C'est le score que nous détaillerons. Il repose sur un classement des hépatites chroniques en fonction de l'activité (A : de 0 à 3) et de la fibrose (F : de 0 à 4). Une grille détaillée est retrouvée dans les ouvrages spécialisés [51].

Pour définir l'activité de la maladie, le groupe Metavir a montré que deux lésions sont prépondérantes : la nécrose périportale et la nécrose lobulaire.

Un algorithme a permis de définir l'activité en fonction de ces deux lésions (tableau XI).

Pour exprimer les résultats, on entoure les items appropriés parmi les situations résumées ci-dessous :

Hépatite chronique	Sans activité (A0)	Sans fibrose (F0)
	Avec activité minimale (A1)	Avec fibrose portale sans septa (F1)
	Avec activité modérée (A2)	Avec fibrose portale et quelques septa (F2)
	Avec activité sévère (A3)	Avec fibrose septale sans cirrhose (F3)
		Avec cirrhose (F4)

Notons qu'en pratique, quel que soit le système de score utilisé, il est indispensable de comparer le prélèvement à examiner aux prélèvements pratiqués antérieurement chez le patient.

Tableau XI : Grille Metavir. Algorithme permettant l'évaluation de l'activité d'une hépatite chronique

NP = 0		NL = 0 ————— A = 0 NL = 1 ————— A = 1 NL = 2 ————— A = 2
NP = 1		NL = 0, NL = 1 ————— A = 1 NL = 2 ————— A = 2
NP = 2		NL = 0, NL = 1 ————— A = 2 NL = 2 ————— A = 2
NP = 3		NL = 0, NL = 1, NL = 2 ——— A = 3

NP = nécrose parcellaire : 0 = absente, 1 = minime, 2 = modérée, 3 = sévère ;

NL = nécrose lobulaire : 0 = absente ou minime, 1 = modérée, 2 = sévère ;

A = activité : 0 = sans activité, 1 = minime, 2 = modérée, 3 = sévère.

IX.4- Biochimie et histologie hépatique

IX.4.1- Transaminases

L'élévation des transaminases reflète la présence d'une nécrose avec inflammation active mais il n'existe pas de corrélation quantitative avec la sévérité de l'atteinte hépatique sous-jacente. Habituellement, l'ALAT est plus élevée que l'ASAT mais quand la cirrhose s'est développée, l'ASAT peut devenir plus élevée que l'ALAT. Les porteurs asymptomatiques avec une élévation persistante des ALAT, indépendamment de leur statut Ag HBe/anticorps anti-HBe, ont invariablement un certain degré d'hépatite chronique histologique. Vingt pour cent de ces patients sont à risque pour une maladie hépatique sous-jacente sévère comparativement à 1 à 2 % des porteurs Ag HBs avec transaminases normales. Une revue des données concernant ces porteurs à ALAT normales a montré en cumulant plus de 20 publications du monde entier : 83 % de ces patients présentaient une histologie normale ou subnormale ; 2 à 5 % seulement avaient une hépatite chronique active, une cirrhose ou un carcinome hépatocellulaire. Ainsi, chez les porteurs chroniques du VHB à transaminases normales, un examen histologique hépatique unique ne montre que rarement un degré significatif de lésions histologiques. Cependant, il apparaît clairement qu'au cours des infections chroniques par le VHB, ni le profil sérologique, ni le profil virologique, ni le profil biochimique ou l'histologie hépatique ne demeurent inchangé au cours du temps.

IX.4.2- Autres paramètres biochimiques

Les autres paramètres biochimiques n'apportent que rarement des informations supplémentaires, mis à part les cas sévères d'hépatites chroniques actives, de cirrhoses actives ou de carcinomes hépatocellulaires au cours desquels d'autres tests biochimiques peuvent devenir anormaux. La bilirubine sérique est habituellement normale ou discrètement élevée, des valeurs supérieures à 20 mg/l n'étant observées que dans moins de 10 % des

patients avec ALAT élevée. La baisse de l'albumine sérique, l'élévation des gammaglobulines et l'allongement du temps de prothrombine sont habituellement rencontrés chez les patients avec une hépatite chronique active sévère ou avec une cirrhose avancée décompensée.

Au total : l'infection chronique par le VHB nécessite un suivi sur le plan clinique, sérologique, biochimique et histologique.

■ X. MESURES PRÉVENTIVES GÉNÉRALES

Elles incluent [29] :

- le non-partage des objets personnels entrant en contact avec le sang (brosses à dents, objets de toilette contondants, seringues et aiguilles, etc.) ;
- l'utilisation de préservatifs lors des contacts sexuels ;
- l'exclusion des dons du sang positifs pour l'antigène HBs (ou pour l'anticorps anti-HBc ou ayant une activité des transaminases sériques augmentée) ;
- la décontamination des matériels médicaux non jetables (eau de Javel, formol à 10 %, glutaraldéhyde) ;
- l'utilisation de gants, de matériel de ponction jetables dans les containers appropriés, par le personnel soignant.

On doit rappeler les mesures à prendre devant un accident d'exposition au sang (AES) (tableau XII).

Tableau XII : Conduite à tenir en cas de plaie accidentelle chez le personnel soignant

- Nettoyage et désinfection par l'alcool à 70 °C ou l'eau de Javel à 0,1 %.
- Prélèvement sanguin après accord du patient source (pour la recherche des marqueurs du VHB, mais aussi du VIH et du VHC).
- Déclaration de l'accident.
- Prélèvement sanguin du personnel exposé.
- Vérification du statut vaccinal du personnel exposé : document ou recherche et quantification des anticorps anti-HBs et sérologie complète après accord de l'intéressé.

■ XI. TRAITEMENT

XI.1- Traitement prophylaxique

XI.1.1- Immunothérapie passive par les immunoglobulines spécifiques anti-HBs

Les immunoglobulines spécifiques anti-HBs provenant de donneurs immunisés contre le VHB peuvent être utilisées.

XI.1.1.1- Indications de l'immunisation passive après exposition au VHB [11, 29]

- Après un contact sexuel avec un sujet infecté.
- Après un partage de seringues entre toxicomanes intraveineux.
- En cas de contamination accidentelle (piqûre, blessure) par du sang ou des produits sanguins positifs pour l'antigène HBs chez des sujets non vaccinés. L'injection doit être réalisée dans les 48 heures suivant le contage.
- Chez les nouveau-nés de mère positive pour l'antigène HBs.
- Chez les sujets que l'on vaccine en raison d'un terrain à risque (hémodialysés, personnel infirmier, malades transfusés chroniques...) pour couvrir la fenêtre sans protection vaccinale.
- Après transplantation hépatique chez un sujet porteur chronique du VHB.

XI.1.1.2- Posologie recommandée

- 500 UI en cas de contamination accidentelle ;
- 30 UI/kg dès la naissance chez le nouveau-né de mère porteuse de l'antigène HBs ;
- 8 UI/kg (avec un maximum de 500 UI au total) chez l'hémodialysé.

L'immunisation passive doit en outre toujours être associée à une vaccination.

L'administration d'immunoglobulines spécifiques anti-HBs permet de réduire de 75 % l'incidence de l'hépatite B, à condition d'être réalisée moins d'une semaine après le contage et d'être répétée tous les 1 à 2 mois pour les sujets non vaccinés ou n'ayant pas répondu à la vaccination et soumis à un risque permanent. Après transplantation hépatique pour une cirrhose ou une hépatite fulminante virale B, l'administration intraveineuse de fortes doses d'immunoglobulines anti-HBs permet de prévenir dans une large mesure la récurrence de l'infection virale B lorsque la virémie était non détectable au moment de la transplantation.

XI.1.2- Les vaccins contre l'hépatite B

Les premiers essais de vaccin hépatite B entrepris chez l'homme remontent à 1975. L'immunogénicité et l'efficacité remarquables de ce vaccin en font le dernier grand vaccin antiviral mis au point ; l'OMS avait l'ambition de vacciner toute la planète initialement à l'horizon 1997, l'objectif reste à l'ordre du jour mais l'échéance est reportée à la première décennie du XXI^e siècle.

Les polémiques récentes survenues en France concernant le vaccin ont provoqué un ralentissement de la vaccination au niveau national, elles ont eu aussi un impact négatif important dans les pays francophones, mais bien moindre au niveau mondial.

XI.1.2.1- Généralités

* Historiques : la première génération de vaccin était d'origine plasmatique [39], il était obtenu en purifiant à partir du sang d'un porteur chronique des billes d'Ag HBs de 22 nm. Cette protéine est le produit du gène S du VHB. En fait, l'antigène peut être le produit du

seul gène S, mais aussi du Pré S₂/S voire du Pré S₁/Pré S₂-S, ce qui correspond respectivement aux protéines d'enveloppe majeures, moyennes ou grandes.

* Actuelles : ce sont des vaccins obtenus par génie génétique dans lesquels on a cloné le gène S ou les gènes préS-S que l'on a ensuite intégrés dans un génome soit de levures *Saccharomyces cerevisiae* soit dans des cellules de mammifères en l'occurrence des cellules ovariennes de hamster (CHO). Cet antigène peut exister sous deux formes non glycosylée (p24) et glycosylée (gp27). L'Ag HBs peut dans le système mammifère être glycosylé, ce n'est pas le cas dans les levures. Les vaccins actuellement commercialisés en France sont regroupés dans le tableau XIII.

Tableau XIII : Différents vaccins hépatite B commercialisés en France

Nom	Protéines contenues Produits des gènes	Concentration Ag HBs	Vecteur	Cible
ENGERIX B	S	10 µg	<i>S. cerevisiae</i>	Nourrissons, enfants, adolescents < 15 ans
ENGERIX B	S	10 µg	<i>S. cerevisiae</i>	Adultes
Gen HEVAC B	S+ pré S	20 µg	Cellules ovariennes de hamster	Nourrissons, enfants, adultes
HB Vax DNA	S	5 µg	<i>S. cerevisiae</i>	Nourrissons, enfants, adolescents < 15 ans
HB Vax DNA	S	10 µg	<i>S. cerevisiae</i>	Adultes
HB Vax DNA	S	40 µg	<i>S. cerevisiae</i>	Patients dialysés
TWINRIX (Vaccin+VHA+VHB)	S	10 µg	<i>S. cerevisiae</i>	Nourrissons, enfants, adolescents < 15 ans
TWINRIX (Vaccin+VHA+VHB)	S	20 µg	<i>S. cerevisiae</i>	Adultes
INFANRIX (Hexavalent)	S	10 µg	<i>S. cerevisiae</i>	Nourrissons
HEXAVAC (Hexavalent)	S	5 µg	<i>S. cerevisiae</i>	Nourrissons

* À l'étude : différents essais ont été conduits avec d'autres vaccins obtenus par génie génétique utilisant d'autres vecteurs notamment d'autres espèces levures. Sont aussi à l'étude des vaccins viraux hybrides, les gènes S voir Pré-S étant intégré dans les génomes du virus de la vaccine, du Canary Pox, de la rage, de poliovirus, d'Herpès simplex, d'Adénovirus... On a aussi expérimenté, du moins sur modèle animal, des vaccins peptidiques avec des résultats décevants. Enfin, des travaux assez nombreux ont été menés, utilisant des vaccins ADN du VHB ; mais aussi des vaccins-aliments VHB, l'antigène étant produit dans des bananes, des tomates ou des pommes de terre et théoriquement administrables par voie orale.

XI.1.2.2.- Nature des antigènes

Très tôt, il est apparu que les anticorps protecteurs étaient dirigés contre l'antigène d'enveloppe du virus de l'hépatite B (Ag HBs), les candidats vaccins devant donc contenir cet antigène. Mais on distingue différents sous-types au sein de cet antigène d'enveloppe, tous comportant un antigène spécifique de groupe nommé *a* associé à des sous-types mutuellement exclusifs *d* ou *y* et *w* ou *r*, ce qui aboutit aux quatre principaux phénotypes d'Ag HBs : *adw*, *adr*, *ayw* et plus rarement *ayr*, de répartition géographique inégale. Le premier vaccin plasmatique comportait une combinaison *ad + ay* ; par la suite, il est apparu que la synthèse d'anticorps anti-*a* était suffisante pour conférer une immunité protectrice. De ce fait, les vaccins actuels ne comportent qu'une valence.

Certains vaccins ne contiennent que de l'Ag HBs produit du gène S, d'autres contiennent à la fois de l'Ag HBs et du produit pré-S. Or, le pré-S, notamment le pré-S2 favoriserait la réponse chez les non répondeurs ou les moindres répondeurs, mais ce gain lié au pré-S est actuellement discuté.

XI.1.2.3.- Concentration antigénique

Certains vaccins minidosés contenant 2,5 mcg voire même 1,25 mcg ont été développés dans certains pays ; en France les vaccins commercialisés (tableau XIII) contiennent entre 5 et 40 µg avec des concentrations et indications tenant compte de l'âge et de la population cible.

XI.1.2.4.- Rythme d'administration

Les premiers essais vaccinaux comportaient quatre injections, trois injections distantes de 1 mois et rappel au bout d'un an (schéma 0-1-2-12), mais un autre rythme vaccinal est proposé comportant deux injections distantes de 1 mois et rappel à 6 mois (schéma 0-1-6). Le pourcentage de séroconversion avec les deux schémas est quasi identique, mais le titre d'anticorps optimal atteint avec le second schéma est plus faible qu'avec le premier. On recommande actuellement le schéma 0-1-6 sauf lorsqu'une immunisation rapide est souhaitée ou lorsque l'on dispose d'arguments en faveur d'une moindre réponse, auquel cas on conserve le schéma 0-1-2-12. L'opportunité de rappels vaccinaux ultérieurs sera évoquée par la suite.

Chez les nouveau-nés de mères Ag HBs positif, on pratique une sérovaccination. À la maternité, dans les 12 à 24 heures suivant la naissance, on administre en 2 sites différents 100 UI d'HBsIg et une première dose de vaccin. Ultérieurement, on pratique à l'âge de 1 mois, 2 mois et au 12^e mois des injections vaccinales. L'efficacité de cette prévention est remarquable, la protection est supérieure à 90 %, pouvant même dépasser 97 %. Certains auteurs préconisent non pas 100 UI, mais 200 UI pour les nouveau-nés de mères Ag HBs+/Ag HBe+.

XI.1.2.5- Voie d'administration

Les deux seuls sites d'injection acceptables sont le muscle deltoïde et la masse antéro-latérale de la jambe. L'injection dans la fesse est à l'origine de réponses immunes insuffisantes. Il faut que les antigènes puissent être traités par les macrophages et présentés aux

cellules T et B et qu'ils ne passent pas trop vite dans la circulation. L'antigène ne doit pas non plus être dénaturé trop rapidement par les enzymes de l'organisme.

La voie intradermique ne figure pas parmi les recommandations. Une étude personnelle a démontré son efficacité chez les patients hémodialysés non répondeurs [49].

XI.1.2.6- Associations vaccinales

Les vaccins contre l'hépatite B ne doivent pas être mélangés à d'autres vaccins, mais ils peuvent être administrés simultanément avec d'autres vaccins à l'aide d'une seringue et d'une aiguille différentes et dans un site corporel distinct. De même, ils peuvent être administrés simultanément avec des immunoglobulines spécifiques de l'hépatite B (anti-HBs) en utilisant un site d'injection séparé.

Le vaccin combiné Twinrix® ne doit être utilisé que dans le cas d'une double indication de vaccination contre l'hépatite B et contre l'hépatite A.

Des vaccins hexavalents destinés aux nourrissons viennent d'obtenir une autorisation de mise sur le marché (AMM) européen, ils contiennent les valences *Haemophilus influenzae b*, diphtérie, tétanos, polio, coqueluche et hépatite B.

XI.1.3- Facteurs limitant l'efficacité ou la stratégie de la vaccination

En dehors de considérations financières ou stratégiques susceptibles de limiter le champ de la vaccination, il existe des écueils tenant aux échecs de la vaccination, aux conséquences de la vaccination en terme de sélection de mutants, et aux précautions d'emploi voire aux contre-indications à la vaccination. Ces problèmes sont rares, mais ils ne doivent pas être méconnus.

XI.1.3.1- Échecs de la vaccination

- Liés au terrain

Peu de vaccins ont fait l'objet d'une telle surveillance de l'immunogénicité. De ce fait, ce vaccin a fait progresser la connaissance des facteurs de « non-réponse », dont certains sont transposables à d'autres vaccins.

Parmi ces facteurs exerçant une influence négative, il faut citer l'âge (l'immunogénicité diminue nettement avec l'âge après 40 ans et même dès 25 ans), avec le sexe (les hommes répondent moins bien que les femmes), avec l'obésité et le tabagisme [15, 64]. L'immunodépression entraîne une moindre réponse qui peut partiellement être vaincue par l'augmentation de la concentration d'Ag HBs et la multiplication des doses. Pour certains, mais ce point est controversé, la prématurité pourrait également exercer un effet négatif.

- Liés à des sélections de mutants d'échappement

On sait que le virus de l'hépatite B est sujet à une certaine variabilité et qu'il existe des mutants pré-C, pré-S... Certains de ces mutants sont susceptibles d'être facilités par la vaccination à un niveau individuel ou au niveau collectif lorsque le taux de couverture dans la population générale dépasse un taux « critique ». Chez les enfants nés de mère Ag HBs+ et devenant à leur tour Ag HBs malgré une sérovaccination bien conduite, on a constaté

qu'ils développaient une infection due à un mutant d'échappement concernant l'antigène « a ». Dans la majorité des cas, ces mutants concernent un seul acide aminé résidu 145, une arginine étant remplacée par une glycine (figures 5 et 6). À titre indicatif, une étude réalisée récemment aux USA a montré que 0,8 % des enfants nés de mère infectée par le VHB développaient une infection persistante par le variant sG145R malgré l'instauration d'une prévention de la transmission par vaccination/sérothérapie. Une modélisation de l'émergence de variants chez les enfants vaccinés a été proposée par J. Wilson (non publiée). Ces variants non neutralisés par les anticorps anti-HBs induits par le vaccin diffusent peu sur le mode horizontal et leur pouvoir pathogène semble limité. On peut s'interroger sur la nécessité de tenir compte des variants potentiels (peu nombreux) dans les formules vaccinales du futur en ajoutant au vaccin classique des peptides correspondant aux variants. À ce jour, on n'a pas démontré clairement si l'addition de protéines pré-S aux antigènes S limitait l'apparition des mutants.

XI.1.3.2- Précautions d'emploi, contre-indications à la vaccination

Le vaccin contre l'hépatite B est contre-indiqué dans les cas d'infections fébriles sévères, d'hypersensibilité connue à l'un des constituants du vaccin ou apparue après une injection de vaccin. En ce qui concerne vaccin et grossesse, l'effet de l'Ag HBs sur le développement foetal n'a pas été évalué ; cependant, du fait qu'il s'agit d'antigène purifié, on ne doit pas s'attendre à observer d'effets secondaires chez le fœtus. De ce fait, l'utilisation chez la femme enceinte nécessite que l'on mette en balance les avantages escomptés et les risques éventuels.

On s'est interrogé, sans arguments scientifiques seuls, sur le risque que faisait courir le thiomerosal présent dans certains vaccins contre l'hépatite B notamment pour les nouveau-nés ; les laboratoires viennent de retirer par précaution ce produit mercuriel des vaccins.

En France, il était rappelé dans les autorisations de mise sur le marché (AMM) que « toute stimulation immunitaire comporte le risque d'induire une poussée chez les patients atteints de sclérose en plaque. En conséquence, chez les patients atteints de sclérose en plaque... le bénéfice de cette vaccination doit être évalué en fonction des risques d'exposition au virus et du risque encouru ».

Mais cette précaution d'emploi n'a pas été retenue dans les autorisations de mise sur le marché (AMM) européennes ou américaines...

XI.1.3.3- Effets indésirables et polémiques [14a, 14b]

Les effets indésirables rapportés auprès de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé (AFSSaPS) comportent des atteintes démyélinisantes centrales ou périphériques survenues quelques jours ou quelques années après une vaccination, aucun cas ne concernait des nourrissons. En dehors des scléroses en plaques (SEP), les tableaux neurologiques étaient du type myélites, encéphalomyélites, névrites optiques. Outre les pathologies démyélinisantes, étaient rapportées des pathologies auto-immunes et des atteintes hématologiques (thrombopénies et aplasies médullaires).

Les analyses statistiques cas/témoin, cas attendus/cas observés ont essentiellement porté sur les pathologies démyélinisantes. Elles ont été conduites dans les services de neurologie en France et à partir de données britanniques ; si elles ont dans l'ensemble fait ressortir un

sur-risque (odds-ratio entre 1,4 et 1,7), celui-ci n'était pas en faveur d'une association significative avec la vaccination. Les études cas/témoins initiales, non statistiquement significatives, ont récemment été confirmées par deux autres publications portant sur des vaccinations chez des sujets présentant des scléroses en plaque, l'une de l'*European database for Multiple Sclerosis*, l'autre américaine, elles n'ont pas conclu à un sur-risque de poussées de SEP après vaccination (odds ratio de 0,7).

Sur le plan scientifique, on ne dispose pas d'éléments susceptibles d'expliquer une relation entre infection par le virus de l'hépatite B et SEP. La carte mondiale des deux infections montre une image en miroir, les zones de forte prévalence VHB sont à faible prévalence SEP et vice versa. Il n'existe pas non plus de mimétisme antigénique entre l'antigène vaccinal (Ag HBs) et la myéline [45]. La seule homologie trouvée concerne une zone de la polymérase du VHB, mais cette protéine n'est pas présente dans le vaccin. Si cette communauté antigénique était cliniquement fonctionnelle, le portage chronique devrait induire des pathologies neurodégénératives, ce qui n'est pas le cas.

Par prudence, le ministère de la santé a recommandé un temps de considérer comme étant des contre-indications à la vaccination les antécédents personnels de pathologies auto-immunes et les antécédents personnels et familiaux de pathologies démyélinisantes, notamment de SEP. Les deux dernières études publiées [1, 10] font discuter le bien fondé de cette recommandation. On sait que des poussées de sclérose en plaque peuvent être favorisées par des stimulations du système immunitaire diverses, aussi bien que par des infections. Pour les patients présentant des antécédents personnels ou familiaux de SEP, la décision de vacciner (quel que soit le vaccin) doit être prise au cas par cas en fonction du risque/bénéfice individuel. Les événements soit sont fortuits, soit ils surviennent chez un sous-groupe très restreint d'individus prédisposés (HLA-DR2 ?). Les études se poursuivent en France, les données américaines ne concluent pas à un lien, pas plus que les conférences d'experts réunis par l'OMS. Les résultats non significatifs n'ont pas permis de calmer la polémique pas plus que la démonstration d'un rapport bénéfices/risques en faveur de la vaccination pour les différentes cibles actuelles de la vaccination [31]... et la dynamique de la vaccination hépatite B est cassée en France.

Il faut espérer que la mise à disposition du corps médical de vaccins hexavalents destinés aux nourrissons, jamais concernés par ces problèmes de SEP post-vaccinales, permettra de relancer la campagne vaccinale.

Récemment, des cas de myofasciites à macrophages consécutives à des vaccinations ont été rapportés, cet effet indésirable ne serait pas spécifique au vaccin contre l'hépatite B, mais semble-t-il lié à l'hydroxyde d'alumine, adjuvant fréquemment retrouvé dans bon nombre de vaccins.

XI.1.4- Efficacité vaccinale

Elle peut être évaluée par le dosage des anticorps protecteurs (anti-HBs) si un titre seuil « protecteur » de 10 UI/l est souvent retenu, ce titre est en fait assez empirique et discutable d'autant que les travaux récents montrent que chez les sujets qui ont répondu à la vaccination, mais qui ont vu au cours du temps leur titre d'anticorps passer au-dessous de ce seuil, il persiste une immunité protectrice pendant plus de 10 ans, ce qui a permis une remise en cause des rappels vaccinaux [62].

Chez les sujets immunocompétents jeunes, la vaccination entraîne une immunité protectrice chez plus de 95 voire 98 % des vaccinés. La persistance des anti-HBs au-dessus du seuil est étroitement liée au titre atteint au pic (1 à 2 mois après l'injection de rappel).

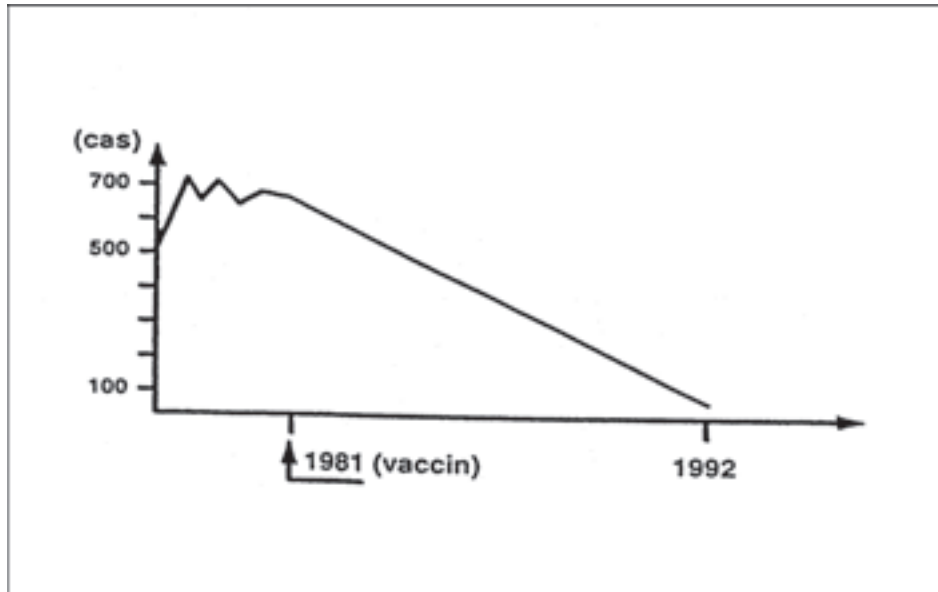


Figure 15 : Évolution du nombre d'hépatites B professionnelles en France (Régime Général de la Sécurité Sociale) après introduction du vaccin

L'efficacité protectrice peut être évaluée en examinant la prévention de l'infection et du portage chronique conférée par le vaccin. Très tôt, on a pu observer une quasi-disparition des hépatites B aiguës ou chroniques chez le personnel de santé vacciné (figure 15). Cette efficacité a également été constatée au niveau des populations vaccinées, nouveau-nés, enfants ou adultes (tableau XIV).

Tableau XIV : Comparaison des hépatites B dans des populations avant et après vaccination [32]

Zone géographique	Age (années)	Pourcentage		
		Taux de couverture	Infections chroniques	
			Avant vaccination	Après vaccination
Alaska	1-10	96	16	0
Taiwan	7-10	73	10	1,1
Samoa	7-8	87	7	0,5
Indonésie	4	> 90	6,2	1,9
Pacifique	3-4	94	9	0,5
Micronésie	3-4	82	9	1,1
Micronésie	2	37	13	3
Polynésie	1-2	66	6,5	0,7

Sans pouvoir envisager une éradication de la maladie au niveau de la planète (impossible avant un tarissement de l'énorme masse de porteurs chroniques), la vaccination intégrée dans les schémas vaccinaux mondiaux doit permettre à court terme une réduction des hépatites fulminantes et des portages chroniques. À plus long terme, ce vaccin a montré qu'il était capable de prévenir les hépatocarcinome, l'hypothèse ambitieuse que nous avons émise dans la décennie 1980 [36], selon laquelle, au vu des données épidémiologiques obtenues au Sénégal [9, 36, 37, 38] (figure 16), une vaccination, en zone d'endémie, des nouveau-nés et nourrissons devait permettre une prévention des hépatocarcinomes, s'est trouvée confirmée récemment par les études réalisées dans le Sud-Est Asiatique (figure 17) [9].

Ces résultats non médiatisés font du vaccin hépatite B le premier vaccin anticancéreux efficace chez l'homme.

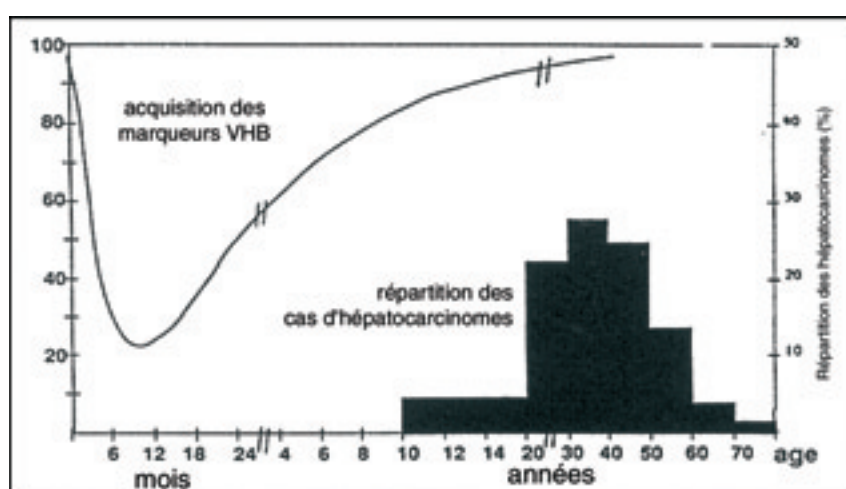


Figure 16 : Répartition en fonction de l'âge des marqueurs du virus de l'hépatite B et des hépatocarcinomes au Sénégal

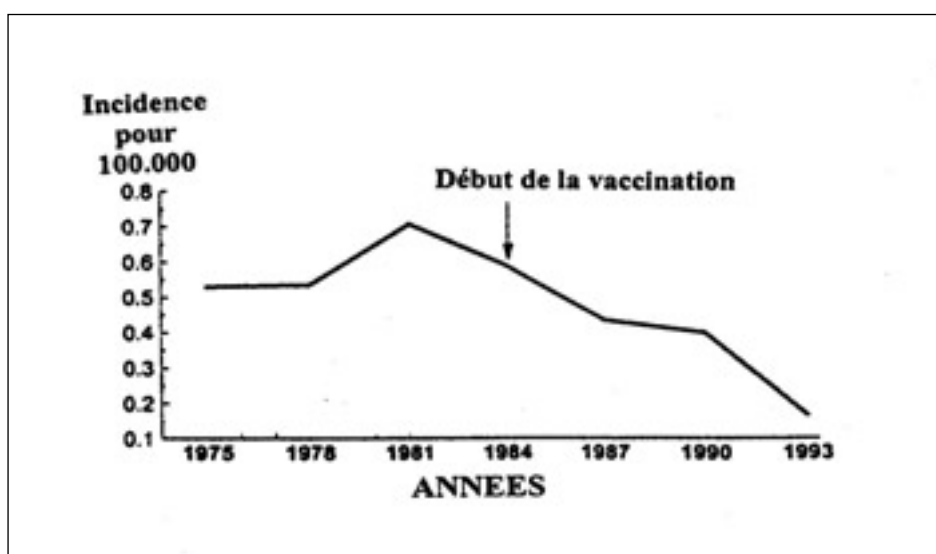


Figure 17 : Taux de morts par cancer du foie chez les enfants âgés de 0 à 9 ans à Taiwan, alors que la prévention périnatale a été instituée en 1984 et la vaccination de routine des enfants en 1986

XI.1.5- Les cibles vaccinales

L'OMS avait recommandé la mise en place de programmes de vaccination généralisée contre l'hépatite B avant 1995 dans les pays de forte endémie et avant 1997 dans les pays de faible endémie, ces objectifs ne sont pas atteints même si le vaccin est intégré dans le programme vaccinal de plus de 80 pays [32, 35].

Après les États-Unis, le Canada et l'Italie, la France a adopté outre la vaccination des groupes à risque (professionnels de santé, patients à risque, nouveau-nés de mère Ag HBs+), une stratégie de vaccination systématique orientée vers une double cible : les nourrissons et les préadolescents avant l'âge de 12 ans. Cette vaccination des adolescents a été un succès puisque cette classe d'âge a bénéficié d'un taux de couverture de 70-80 %. Mis en place en 1994, ce programme complétait l'immunisation des sujets à risque et permettait d'envisager une diminution de 90 % de l'incidence de l'hépatite B dans les 20 années à venir et son élimination à long terme.

La récente polémique a poussé le Ministère à suspendre la vaccination des préadolescents/adolescents dans le cadre scolaire et à s'en remettre au médecin de famille. Mais la vaccination des nourrissons est encouragée, d'autant plus que dans cette classe d'âge le taux de couverture n'est en France que de 30 % contre 90 % dans des pays ayant une prévalence comparable d'infections par le VHB (Italie, États-Unis, Canada...).

Le maintien de la vaccination des groupes à risque et l'incitation à une vaccination généralisée des nourrissons (donc avant un éventuel sur-risque d'effets indésirables) devrait permettre de réduire significativement les infections par le virus de l'hépatite B en France.

La vaccination des nourrissons est facilitée par la mise à disposition de vaccins multi-antigènes intégrant la valence VHB. Mais il ne faut pas perdre de vue que si on se limite à ces seules recommandations sans prendre en compte les enfants plus âgés, les préadolescents/adolescents. Ces générations ne seront pas immunisées bien qu'à risque, et seuls ceux qui se destinent aux professions de santé seront vaccinés et protégés.

XI.1.6- Conclusion

Le vaccin contre l'hépatite B a permis une diminution spectaculaire des hépatites B aiguës, chroniques et même des cancers primitifs du foie chez les sujets vaccinés.

La protection de l'ensemble de la population par vaccination reste un objectif raisonnable, la mise à disposition de vaccins multivalents comportant l'antigène HBs devrait faciliter cette extension de la vaccination.

Même si en France le rapport bénéfice/risque est très en faveur de la vaccination, des études qui ont été entreprises pour déterminer si les effets indésirables prêtés au vaccin sont le fait de coïncidences ou s'il y a un lien de causalité n'ont pas abouti à un lien entre les deux événements ; on peut toutefois rechercher s'il existe des facteurs individuels de susceptibilité.

La prise en compte de l'émergence de mutants d'échappement s'impose, il faut déterminer la part de ceux-ci et en fonction des résultats décider s'il y a lieu de modifier le vaccin actuel en associant l'Ag HBs à des protéines pré S et/ou à des épitopes couvrant les principales séquences peptidiques mutées.

XI.2- Traitement curatif des hépatites B

Afin de comprendre le contexte dans lequel se situent des traitements antiviraux dont on attend un déclin de la virémie plasmatique, il ne faut pas perdre de vue quelques caractéristiques cruciales de la réplication du VHB telles qu'elles ont été déterminées par Nowalk et al [43]. Dans le plasma, les particules du VHB ont une demi-vie d'environ 1 jour, avec un *turn-over* quotidien qui concerne 50 % des virus libres.

Le nombre total de virus libérés dans la circulation est d'environ 10^{11} particules virales par jour.

Différentes approches thérapeutiques sont envisagées (tableau XV) actuellement disponibles ou du domaine de la recherche.

XI.2.1- Antiviraux

Un traitement antiviral ne peut être proposé qu'aux malades ayant une réplication du virus, c'est-à-dire chez lesquels la recherche d'ADN du VHB est positive.

La réponse au traitement est mesurée sur des arguments virologiques, biochimiques (normalisation des transaminases) et histologiques.

XI.2.1.1- Molécules ayant une autorisation de mise sur le marché (AMM)

Trois antiviraux ont cette AMM : l'interféron-alpha, la vidarabine et la lamivudine.

- L'interféron-alpha est un traitement efficace de l'hépatite chronique B, on obtient une négativation de l'ADN du VHB sérique dans 30 % des cas, avec normalisation des trans-

Tableau XV : Différents traitements de l'hépatite chronique B
(d'après Pianko et Mc Hutchinson) [47]

Molécules	Mécanismes d'action	Phase de développement
<ul style="list-style-type: none"> • Analogues de nucléosides - lamivudine (analogue lévogyre de nucléotides) - famciclovir (analogue de la guanosine) - adéfovir - enfécavir - adénosine arabinosine ou vidarabine ara-MP ou vira-MP et ara-MP couplée à l'albumine humaine lactosaminée (analogue de l'adénine) 	<p>Inhibe la polymérase du VHB Inhibe la polymérase du VHB</p> <p>Activité virostatique</p>	<p>AMM Phase III Phase II/III Phase I/II AMM</p>
<ul style="list-style-type: none"> • Interféron 	<p>Immunomodulateur et anti-viral</p>	<p>AMM</p>
<ul style="list-style-type: none"> • Immunothérapie - Vaccination par l'Ag HBs - Immunisation par ADN 	<p>Stimule la réponse T spécifique Stimule la réponse T cytotoxique et induit l'immunité cellulaire</p>	<p>Phase I/II Pré-clinique</p>
<ul style="list-style-type: none"> • Thérapie génique - Oligonucléotides anti-sens - ARN anti-sens - Ribosomes 	<p>Complémentaires du brin Sens, bloquant la réplication Clivent l'ARN catalytique</p>	<p>Pré-clinique Pré-clinique</p>

aminases et disparition de l'Ag HBe. La séroconversion antigène HBe/anticorps anti-HBe survient dans 15 à 20 % des cas. À l'arrêt du traitement, la rechute est rare chez les malades avec le virus sauvage (c'est-à-dire positifs pour l'Ag HBe). Elle est plus fréquente chez les malades porteurs de virus mutant pré-C. La posologie du traitement est de 5 millions d'unités par $m^2 \times 3$ /semaine. Les effets secondaires sont fréquents.

- La vidarabine (vira-MP) est un médicament anti-viral utilisé il y a une vingtaine d'années dans le traitement de l'hépatite chronique B ; il est efficace, la négativation de l'Ag HBe étant obtenue dans environ 20 % des cas, mais les effets secondaires, en particulier neuromusculaires, en ont limité l'utilisation.

- La lamivudine commercialisée sous le nom de Zeffix a eu l'AMM dans le traitement de l'hépatite chronique en juillet 1999. La lamivudine est un analogue nucléosidique oral, qui bloque l'élongation de l'ADN, mais n'a pas d'effet sur l'ADN superenroulé. La lamivudine, forme lévogyre de la molécule, n'a pas les effets délétères de la forme dextrogyre, la fialuridine. Ce médicament était très efficace sur la réplication virale du VHB, mais était particulièrement toxique.

Une importante revue concernant la place de la lamivudine dans le traitement des hépatites chroniques due à Buffet et Perlemuter fait le point sur le sujet [4], nous nous y sommes largement référés ainsi qu'à un autre travail portant sur les perspectives thérapeutiques dans les infections à VHB dû à Pianko et Mc Hutchison [47].

La lamivudine est efficace à la dose de 100 mg par jour au cours de l'hépatite chronique B, donc à une dose inférieure à celle prescrite au cours de la maladie à VIH.

Quatre semaines après le début du traitement, on constate que les taux sériques d'ADN du VHB diminuent jusqu'à devenir indétectables chez la quasi-totalité des malades traités.

Après un traitement de 12 mois, on observe une disparition de l'Ag HBe dans environ 30 % des cas et une séroconversion Ag HBe anti-HBe chez environ 20 %.

La perte de l'Ag HBe augmente graduellement avec le temps. Ainsi, un traitement de 18 mois multiplie par 3 les chances de perte de l'Ag HBe par rapport au placebo (38 % vs < 12 %). L'Ag HBs peut même se négativer dans un petit nombre de cas.

La lamivudine est donc efficace sur le virus sauvage et pourrait être également active sur le virus mutant pré-C (anti-HBe et ADN du VHB positifs).

Le problème qui se pose est celui de la persistance de l'efficacité virologique après l'arrêt du traitement.

Habituellement, l'ADN du VHB sérique retourne aux valeurs pré-thérapeutiques dans les 1 à 3 mois qui suivent l'arrêt du traitement, sauf chez les 20 % des malades chez lesquels on a obtenu une séroconversion de l'Ag HBe en anticorps anti-HBe. Cependant, cette séroconversion n'est pas durable dans toutes les études.

Dès le début de l'utilisation de la lamivudine dans le traitement de l'hépatite chronique B, il a été constaté la survenue de mutations du gène de la polymérase virale, spécialement au niveau du motif hautement conservé YMDD (tyrosine-méthionine-aspartate-aspartase). Il y a transformation de la séquence d'acides aminés YMDD en YVDD ou YIDD (où la

méthionine (M) en position 552 est remplacée par la valine (V) ou l'isoleucine (I)). Ces mutations sont les plus fréquentes, mais d'autres mutations ont été individualisées.

Le risque de mutations augmente avec la durée du traitement. La sélection de souches mutantes est observée chez 14 % des patients immunocompétents après un an de traitement, dans 35 et 50 % des cas après 2 et 3 ans et 90 % à 7 ans. Un taux élevé d'ADN du VHB semble prédire un risque plus élevé de mutations.

La signification clinique de ces mutations est encore mal connue.

XI.2.1.2- Molécules de l'avenir [4, 12, 47]

Un assez grand nombre d'autres anti-viraux (lobucavir, famciclovir, adéfovir, penciclovir, entecavir) sont à l'étude.

Le lobucavir est efficace sur la réplication virale B entraînant une négativation de l'ADN du VHB viral chez 70 % des malades traités et une perte de l'Ag HBe chez 20 %. Cependant, les essais cliniques ont été arrêtés en raison d'une possible association entre l'administration à long terme et la survenue de cancer chez les souris et les rats.

Le famciclovir est probablement une molécule moins intéressante, car, s'il entraîne une négativation de l'ADN du VHB chez tous les malades traités, la séroconversion dans le système HBe ne survient que chez une minorité d'entre eux. De plus, des mutations de la DNA polymérase virale sont également constatées avec une résistance croisée avec la lamivudine.

L'adéfovir est efficace pour annuler la réplication virale B et entraîner une perte de l'Ag HBe et/ou une séroconversion dans le système HBe chez 20 à 27 % des malades.

Il n'a pas été constaté de mutations. *In vitro*, les souches résistantes à la lamivudine sont sensibles à l'adéfovir.

XI.2.1.3- Associations antivirales

L'avenir repose probablement sur l'utilisation de multithérapies fondées sur l'utilisation de molécules possédant un mécanisme d'action et un profil de résistance différents.

Les études sont encore peu nombreuses et les résultats préliminaires. Dans certaines études, l'association de l'interféron et de la lamivudine n'augmente pas le taux de réponse par rapport à la monothérapie. Dans d'autres études, avec des associations séquentielles (lamivudine, puis l'association de lamivudine et d'interféron), il semble que cette bithérapie entraîne un taux de séroconversions dans le système e plus élevé qu'avec la monothérapie (interféron seul ou lamivudine seule).

Au total, si les traitements des hépatites chroniques à VHB à base d'antiviraux ont des résultats inférieurs à ceux obtenus avec l'hépatite C, ils sont malgré tout encourageants ; une amélioration des résultats peut être attendue d'une institution de traitements plus précocement dans la maladie et d'associations thérapeutiques, sous réserve d'une toxicité modérée de ces associations.

XI.2.2- Immunothérapie

Une approche curative originale a été proposée, utilisant une immunothérapie avec des protéines d'enveloppe recombinantes ou de l'ADN viral. Les essais cliniques ont suggéré une réduction d'au moins 50 % de la clairance de la réplication du VHB chez près de 30 % des porteurs chroniques, 3 mois après 3 doses mensuelles de vaccins S ou pré-S2/S.

Le travail récent de Soussan et al [56] a montré que cette vaccination n'induit pas de mutations au niveau du déterminant « a ».

Une immunisation avec de l'ADN du VHB a également été tentée afin de stimuler une réponse T cytotoxique et d'induire une immunité cellulaire.

Les résultats obtenus avec ces deux approches ne sont pas univoques selon les auteurs, tant en intensité qu'en durée.

Rappelons, pour mémoire, que des traitements immunomodulateurs ont été entrepris pour traiter les hépatites B chroniques en partant du principe que l'infection est principalement immuno-induite et que l'intérêt théorique d'immunomodulateurs est indiscutable. Parmi ces traitements, on retrouve bien sûr les interférons, les dérivés thymiques (thymosine, thymopentine), le levamisole, des facteurs de croissance tel le GM-CSF.

XI.2.3- Transplantation hépatique

Il ne s'agit pas d'un traitement curatif, mais substitutif.

Dans les hépatites fulminantes, elle reste le seul traitement efficace, sa place dans les cirrhoses et dans les hépatocarcinomes reste difficile à préciser.

Si les résultats de la transplantation à court terme sont bons (environ 80 % de survie à un an), le risque de persistance de l'infection virale ou de récurrence de l'hépatopathie sur le greffon sont les principaux facteurs limitants [48].

La réinfection par le VHB, en l'absence de prophylaxie, survient chez 75 à 90 % des patients. L'instauration d'une immunothérapie spécifique massive lors de la greffe permet de réduire notablement cette réinfection.

Le risque de récurrence est corrélé avec la multiplication virale précédant la transplantation hépatique, ce qui, selon Pol [48], renforce la nécessité d'instaurer des traitements antiviraux en attendant la greffe.

La récurrence de l'infection virale et la réinfection du greffon peuvent conduire à une hépatopathie chronique rapidement cirrhotique ou une insuffisance hépatique aiguë.

Au total, il existe des traitements curatifs contre le VHB, il est important de ne pas attendre la survenue de complications majeures pour discuter ces traitements dont l'efficacité est corrélée non seulement à la précocité mais aussi au stade évolutif histologique de la maladie [48].

■ XII. CONCLUSION

Depuis la découverte de l'antigène Australia par Blumberg en 1963, les connaissances concernant le virus de l'hépatite B qui constitue un fléau pour l'humanité (30 millions de

BIBLIOGRAPHIE

- 1- ASCHERIO A., ZHANG S.M., HERNAN M.A., OLEK M.J., COPLAN P.M., BRODOVICZ K., WALKER A.M. Hepatitis B vaccination and the risk of multiple sclerosis. *N. Engl. J. Med.*, 2001 ; 344 : 327-332.
- 2- BERNUAU J., GOUDEAU A., POYNARD T., DUBOIS F., LESAGE G., YVONNET B., DEGOTT C., BEZAUD A., RUEFF B., BENHAMOU J.P. Multivariate analysis of prognostic factors in fulminant hepatitis B. *Hepatology*, 1986 ; 6 : 648-651.
- 3- BUDKOWSKA A., PILLOT J. Signification biologique et clinique des antigènes pré-S et des anticorps correspondants au cours de l'infection par le virus de l'hépatite B. *Gastroenterol Clin. Biol.*, 1990 ; 14 : 861-867.
- 4- BUFFET C., PERLEMUTER G. Le traitement des hépatites chroniques virales B par la lamivudine. *Press Med.*, 2001 ; 30 : 131-136.
- 5- CARMAN W.F., JACYNA M.R., HAZIYANNIS S., KARYIANNIS P., Mc GARVEY M.J., MAKRIS A., THOMAS H.C. Mutation preventing formation of hepatitis B e antigen in patients with chronic hepatitis B infection. *Lancet*, 1989 ; II : 588-590.
- 6- CARMAN W.F., THOMAS H.C. Genetically defined variants of hepatitis B virus. *Reviews Med. Virol.*, 1991 ; 1 : 29-39.
- 7- CARMAN W.F., THOMAS H.C., ZUCKERMAN A.J., HARRISON T.J. Molecular variants of hepatitis B virus. In « Viral hepatitis », AR Zuckerman and HC Thomas Ed. Churchill Livingstone. 2nd Ed. London 1998 : 141-172.
- 8- CARMAN W.F., ZANETTI A.R., KARAYIANNIS P. et al. Vaccine induced escape mutant of hepatitis B virus. *Lancet*, 1990 ; 336 : 325-329.
- 9- CHANG M.H., CHEN C.J., LAI M.S. et al. Universal hepatitis B vaccination in Taiwan and the incidence of hepatocellular carcinoma in children. *New Engl. J. Med.*, 1997 ; 336 : 1855-1859.
- 10- CONFAUREUX C., SUISSA S., SADDIER P., BOURDES V., VUKUSIC S. For the multiple sclerosis study group. Vaccinations and the risk of relapse in multiple sclerosis. *N. Engl. J. Med.*, 2001 ; 344 : 319-326.
- 11- COUROUCE A.M. Prévention d'une infection par le virus de l'hépatite B. *Immunanal Biol. Spé.*, 1991 ; 26 : 41-45.
- 12- DE CLERCQ E. Perspectives for the treatment of hepatitis B virus infections. *Int. J. Antimicrobial Agents*, 1999 ; 12 : 81-95.
- 13- DEGOS F. Épidémiologie et prévention de l'infection par le virus de l'hépatite B. In « Hépatites virales ». Coordinateurs C. Trepo et D. Valla. Doin, Paris, 1993. p. 19-32.
- 14a- DENIS F. Polémiques autour du vaccin contre l'hépatite B. *Bull. SFM*, 1999 ; 14 : 7-10.
- 14b- DENIS F. Vaccination : le modèle hépatite B. In « L' A, B, C... des hépatites... » Séminaire Fondamental de Microbiologie Clinique. Décembre 1999, 1 volume.
- 15- DENIS F., RANGER S. Diagnostic virologique des infections par le virus de l'hépatite B. *L'Eurobiologiste*, 1992 ; 26 : 130-149.

- 16- DENIS F., RANGER-ROGEZ S., TABASTE J.L., SOULIE J.C., GOUDEAU A. Virus de l'hépatite B. In « Virus transmissibles de la mère à l'enfant ». F. Denis Ed. John Libbey. Eurotext. Montrouge 1999, p. 85-103.
- 17- DUCLOS-VALLÉE J.C., MABIT M., DUCLOUX S., CAPEL F., DUBLANCHET S., PETIT M.A. Les différents candidats récepteurs du virus de l'hépatite B. *Virologie*, 2000 : 473-483.
- 18- EVANS A.A., LONDON W.T. Epidemiology of hepatitis B. In « Viral hepatitis ». AJ Zuckerman, HC Thomas Ed. Churchill Livingstone, London, 1998, p. 107-114.
- 19- FAGAN E.A., WILLIAM R. Fulminant viral hepatitis. *Brit. Med. Bull.*, 1980 ; 46 : 462-480.
- 20- GOUDEAU A. L'hépatite B. Monographie. Institut Pasteur Ed Paris 1983, 32 p.
- 21- GOUDEAU A., DUBOIS F. Le diagnostic étiologique d'une hépatite virale en 1987. *Gastroentérol Chir. Biol.*, 1987 ; 11 : 277-282.
- 22- GOUDEAU A., YVONNET B., LESAGE G., BARIN F., DENIS F., COURSAGET P., CHIRON J.P., DIOP MAR I. Lack of anti-HBc IgM in neonates with HBs Ag carrier mothers argues against transplacental transmission of hepatitis B virus infection. *Lancet*, 1983 ; II : 1103-1104.
- 23- GUYADER D. Mutants du virus de l'hépatite B. *Concours Med.*, 1997 ; 119-32 : 2416-2420.
- 24- HESS J., STEMLER M., WILL H., SCHROÖDER C.H., KÜHN J., BRAUN R. Frequent detection of antibodies to hepatitis B virus X-protein in acute, chronic and resolved infections. *Med. Microbiol. Immunol.*, 1988 ; 177 : 195-205.
- 25- HO S.K.N., CHAN T.M., CHENGI K.P., LAI K.N.L. Comparison of the second generation digene hybrid capture assay with the branched-DNA assay for measurement of hepatitis B virus DNA in serum. *J. Clin. Microbiol.*, 1999 ; 37 : 2461-2465.
- 26- IJAZ S., TORRE F., TEDDER R.S., WILLIAMS R., NAOUMOV N.V. Novel immunoassay for the detection of hepatitis B surface « escape » mutants and its application in liver transplant recipients. *J. Med. Virol.*, 2001 ; 63 : 210-216.
- 27- KANN M., GERLICH W.H. Replication of hepatitis B virus. In « The molecular medicine of viral hepatitis ». T.J. Harrison and A.J. Zuckerman Ed. John Wiley & Sons, Chichester 1997, p. 63-87.
- 28- KREMSDORF D., THIERS V., GARREAU F., TRAN A., PATERLINI P., GERKEN G., NALPAS B., BRECHOT C. Variabilité génétique du virus de l'hépatite B et son expression sérologique. *Médecine/Sciences*, 1990 ; 6 : 108-116.
- 29- LEFRERE J.J., LUNEL F., MARCELLIN P., PAWLOTSKY J.M., ZARSKI J.P. Guide pratique des hépatites virales. Éditions Médicales Spécialisées. Paris, 1998.
- 30- LEROY V., ZARSKI J.P. Le virus de l'hépatite B. In « Virologie moléculaire médicale ». JM Seigneurin et P Morand Éd. Lavoisier *Technique et Documentation*, Paris ; 1997 : 237-246.
- 31- LEVY-BRUHL D., REBIERE I., DESENCLOS J.C., DRUCKER J. Comparaison entre les risques de premières atteintes démyélinisantes centrales aiguës et les bénéfices de la vaccination contre l'hépatite B. *Bull. Épidemiol. hebd.*, 1999 ; 9 : 33-35.

- 32- MAHONEY F.J. Update on diagnosis, management and prevention of hepatitis B virus infection. *Clin. Microb. Reviews*, 1999 ; 12 : 351-366.
- 33a- MANIEZ-MONTREUIL M. Diagnostic sérologique de l'infection par les virus des hépatites B et delta. *Immunoanal. Biol. Spéc.*, 1991 ; 26 : 23-32.
- 33b- MANIEZ-MONTREUIL M. et CROENNE S. Antigène HBs et vaccination contre le virus de l'hépatite B. In Elsevier Éd. Paris 1995 : 147-150.
- 34- MARTET G., DEBONNE J.M., AUBRY P., LECAMUS J.L. Les marqueurs biologiques et histologiques de l'hépatite chronique à virus B. *Rev. Frcse Lab.*, 1990 ; 201 : 61-67.
- 35- MAST F.E., ALTER M.J., MARGOLIS H.S. Strategies to prevent and control hepatitis B and C virus infections : a global perspective. *Vaccine*, 1999 ; 17 : 1730-1733.
- 36- MAUPAS P.H., COURSAGET P., GOUDEAU A., DRUCKER J., BARIN F., PERRIN J., CHIRON J.P., DENIS F., DIOP MAR I. HBV infection and hepatoma : epidemiological, clinical and virology study in Senegal. Perspective of prevention by active immunization. In « Viruses in naturally occurring cancer ». M Essex, G Torado, M Zur Hausen, Ed Cold Spring Harbor, Vol 7, New York 1980, p. 481-508.
- 37- MAUPAS P.H., MELNICK J.L. Progress in Medical Virology. Tome 27. Hepatitis B virus and primary hepatocellular carcinoma. Karger Ed Basel, 1991.
- 38- MAUPAS P.H., CHIRON J.P., BARIN F., COURSAGET P., GOUDEAU A., PERRIN J., DENIS F., DIOP MAR I. Efficacy of hepatitis B vaccine in prevention of early HBs Ag carrier state in children. Controlled trial in an endemic area (Senegal). *Lancet*, 1981 ; I : 289-292.
- 39- MAUPAS P., GOUDEAU A., COURSAGET P., DRUCKER J., BAGROS P. Immunization against hepatitis B in man. *Lancet*, 1976 ; I : 1367-1370.
- 40- MILICH D.R., HONES J.E., HUGUES J.L et al. Is a function of the secreted hepatitis B e antigen to induce immunologic tolerance *in utero*. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1990 ; 87 : 6599-6603.
- 41- NASSAL M., SCHALLER H. Hepatitis B virus replication on update. *J. Viral Hepatitis*, 1997 ; 3 : 217-226.
- 42- NEURATH A.R., THANAVALA Y. Hepadnaviruses. In « Immunochemistry of viruses II ». The basis for serodiagnosis and vaccines. MHV Van Regenmortel and AR Neurath. Elsevier Ed 1990 ; p. 403-458.
- 43- NGUI S.L., HALLET R., TEO C.G. Natural and iatrogenic variation in hepatitis B virus. *Rev. Med. Virol.*, 1999 ; 9 : 183-209.
- 44- NOWAK M.A., BONHOEFFER S., HILL A.M., BOEHME R., THOMAS H.C., Mc DADE M. Viral dynamics in hepatitis B virus infection. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 1996 ; 93 : 4398-4402.
- 45- OLDSTONE M.B.A. Molecular mimicry and immune-mediated diseases. *FSEB J.*, 1998 ; 12 : 1255-1265.
- 46- PAWLOTSKY J.M. Réplication et variabilité génomique. In « L'A, B, C... des hépatites... ». Séminaire Fondamental de Microbiologie Clinique. Décembre 1999, 1 volume.

- 47- PIANKO S., Mc HUTCHINSON J. Chronic hepatitis B : new therapies on the horizon ? *Lancet*, 1999 ; 354 : 1662-1663.
- 48- POL S. Les hépatites virales. Doin. Collections conduites Paris 1996, 124 p.
- 49- POUX J.M., RANGER-ROGEZ S., LAGARDE C., BENEVENT D., DENIS F., LEROUX-ROBERT C. Vaccination contre l'hépatite B. Intérêt de l'administration intradermique chez les dialysés non répondeurs par voie musculaire. *Presse Med.*, 1995 ; 24 : 803-806.
- 50- QUIROGA J.A., BARTOLOME J., PORRES J.C. Identification of different degrees of hepatitis B virus replications by serological (HBV-DNAP, HBe-Ag and HBV-DNA) and histological (HBe-Ag) methods. *Liver*, 1987 ; 7 : 169-175.
- 51- REYNES M. La biopsie hépatique en pathologie non tumorale du foie. Groupe Méta-vir. Elsevier Éd, Paris, 2000.
- 52- ROSMORDUC O., PATERLINI P., POUPON R., BRECHOT C. Virus des hépatites et carcinome hépatocellulaire. *Gastroentérol. Clin. Biol.*, 1999 ; 23 : 363-375.
- 53- SEGER C., MASON W.S. Hepatitis B virus biology. *Microbiol. Molecular Biol. Reviews*, 2000 ; 64 : 51-68.
- 54- SINCLAIR S., WAKEFIELD A., LEVY G. Fulminant hepatitis. *Springer Semin. Immunopathol.*, 1990 ; 12 : 33-45.
- 55- SOUSSAN P., GARREAU P., BRECHOT C., KREMSDORF D. Une nouvelle protéine du virus de l'hépatite B. *Médecine/Sciences*, 2000 ; 16 : 855-856.
- 56- SOUSSAN P., POL S., GARREAU F., BRECHOT C., KREMSDORF D. Vaccination of chronic hepatitis B virus carriers with pre S2/S envelope protein is not associated with the emergence of envelope escape mutants. *J. Gen. Virol.*, 2001 ; 82 : 367-371.
- 57- STUYVER L., DE GENDT S., VAN GEYT C., ZOULIM F., FRIED M., SCHIWAZI R.F., ROSSAU R. A new genotype of hepatitis B virus : complete genome and phylogenetic relatedness. *J. Gen. Virol.*, 2000 ; 81 : 67-74.
- 58- TIOLLAIS P., DUBOIS F. Le diagnostic étiologique d'une hépatite virale en 1987. *Gastroenterol. Chir. Biol.*, 1987 ; 11 : 277-282.
- 59- TIOLLAIS P., DEJEAN A., BUENDIA M.A. Virus de l'hépatite B et hépatocarcinome. *Médecine/Sciences*, 1990 ; 6 : 96-97.
- 60- TONG S., TREPO S. The HBe-minus mutants of hepatitis B virus. In « The molecular medicine of viral hepatitis ». T.J. Harrison and A.J. Zuckerman Ed. John Wiley & Sons, Chichester 1997, p. 89-104.
- 61- TREPO C., CAUSSE X. Acquis récents concernant les hépatites à VHB. *EMC Foie-Pancréas*, 1989 ; 7015 B : 1-4.
- 62- WEST D.K., CALANDRA G.B. Vaccine induced immunologic memory for hepatitis B surface antigen : implications for policy on booster vaccination. *Vaccine*, 1996 ; 14 : 1019-1027.

- 63- WILLIAM S.I., SMITH M.G., SINHA D., KERNAN D., MINOR-BABIN G., GARCIA E. et al. Hepatitis B virus transmission in an elementary school setting. *JAMA*, 1997 ; 278 : 2167-2169.
- 64- WOOD R.C., Mc DONALD K.L., WHITE K.E., HEDBERG C.W., HANSON M., OSTERHOLM M.T. Risk factors for lack of detectable antibody following hepatitis B vaccination of Minnesota health care workers. *JAMA*, 1993 ; 270 : 2935-2939.
- 65- YUKI N., HAYASHI N., KASAHARA A., KATAYAMA K., UEDA K., FUSAMOTO H., KAMADA T. Detection of antibodies against the polymerase gene product in hepatitis B virus infection. *Hepatology*, 1990 ; 12 : 193-198.
- 66- ZARSKI J.P., SEIGNEURIN J.M. La variabilité génétique du virus de l'hépatite B : relation éventuelle avec la pathogénicité. *Gastroenterol. Clin. Biol.*, 1991 ; 15 : 277-279.
- 67- ZUCKERMAN A.J., THOMAS H.C. Viral hepatitis. Second Ed. Churchill Livingstone, London, 1998, 1 vol.
- 68- ZUCKERMAN A.J., HARRISON T.J. Hepatitis viruses. In « Principles and practice of Clinical Virology ». A.J. Zuckerman, J.E. Barratvala and J.R. Pattison Ed. John Willey & Sons. Chichester. 3^e édition 1994, p. 153-187.

LE VIRUS DE L'HÉPATITE DELTA (VHD)

F. DENIS

(Service de Bactériologie-Virologie-Hygiène, C.H.U. Dupuytren, Limoges)

M. MANIEZ

(Laboratoire C.Q.F.D. en virologie, E.F.S. Nord de France, Lille)

CAHIER DE **BIOFORMA**
Formation
version numérique

I. INTRODUCTION

Dans un premier temps, après sa découverte en 1977 par Rizzetto [9, 8], l'antigène delta a été considéré comme appartenant à un nouveau système antigénique associé aux manifestations les plus sévères de l'hépatite B.

Par la suite, de nombreux travaux ont montré qu'en fait cet antigène était un marqueur d'un nouveau virus, le virus de l'hépatite delta (VHD).

Ce virus a la particularité, unique à ce jour en pathologie humaine, d'être un virus défectif, c'est-à-dire incapable de se répliquer de manière autonome, et dépendant d'un autre virus (virus helper), en l'occurrence le virus de l'hépatite B (VHB), pour assurer sa réplication. Le virus delta peut être acquis en même temps que le virus B (coinfection) ou survenir sur une hépatite B chronique (surinfection).

La découverte du VHD a permis de mieux comprendre l'évolution des infections à virus B, évolution qu'il est capable de modifier.

Le VHD étant comme le virus B présent en France, il est indispensable que les biologistes et cliniciens soient familiarisés avec le diagnostic virologique de ce virus qui complique certaines formes cliniques particulières de l'hépatite B.

II. CARACTÉRISTIQUES DU VIRUS

Le virus de l'hépatite delta (VHD) est un virus à ARN dont les caractéristiques sont uniques pour un virus animal et n'a donc pas encore été classé dans une famille.

II.1- Classification

Il s'apparente aux pseudo-virus pathogènes des plantes que sont les viroïdes, les virus satellites et les ARNs satellites [11].

- Comme un ARN satellite, l'ARN du VHD s'enveloppe avec une protéine empruntée à son virus auxiliaire, l'antigène de surface (Ag HBs) du virus de l'hépatite B (VHB).
- Comme un ARN ou un virus satellite, le VHD peut inhiber la réplication de son virus auxiliaire.
- Comme un viroïde, le VHD possède un ARN monocaténaire circulaire comprenant un haut degré d'appariement interne et se réplique dans le noyau cellulaire par un cercle rou-

lant. Toutefois, à la différence d'un viroïde dont l'ARN (250 à 300 nucléotides) est trop petit pour coder pour une protéine, l'ARN du VHD (1 700 nucléotides) code pour au moins une protéine, l'antigène delta (Ag HD). Bien qu'empaqueté avec l'ARN du VHD dans l'Ag HBs, l'Ag HD n'a ni les caractéristiques ni le rôle d'une protéine de capsid, comme c'est le cas pour les protéines synthétisées par les virus satellites qui utilisent les enzymes de répllication de leur virus auxiliaire, le VHD se réplique sans aucun facteur du VHB, dont le rôle ne consiste qu'à fournir une enveloppe au génome du VHD. Le VHD possède donc certaines caractéristiques de chacune des trois classes de petits ARNs pathogènes des plantes.

Trois génotypes ont été décrits sur la base de l'analyse des séquences obtenues à partir d'isolats cliniques de VHD. Le génotype I a été identifié à partir d'isolats provenant d'Amérique du Nord, d'Europe, d'Afrique, d'Asie et du Sud-Pacifique [14]. Le génotype II n'a été retrouvé qu'en Asie de l'Est, et le génotype III seulement au nord de l'Amérique du Sud [1]. Une souche isolée à Taiwan bien que phylogénétiquement éloignée des 3 génotypes connus est considérée comme un sous-type du génotype II [2]. La divergence établie à partir de l'analyse des séquences correspondant à la totalité du génome viral est de 30 à 40 %. La détermination des génotypes viraux peut être obtenue par l'analyse des profils de restriction (RFLP) [2].

II.2- Morphologie (figure 1)

La particule infectieuse circulante [18] a une taille moyenne de 36 nm (28-39 nm) et une densité de flottation en chlorure de césium de 1,25 g/cm³. Elle consiste en un complexe entre l'Ag HD et l'ARN génomique, enveloppés dans l'Ag HBs du VHB. Cet ARN génomique d'environ 1 700 nucléotides est à polarité négative, monocaténaire et circulaire, et

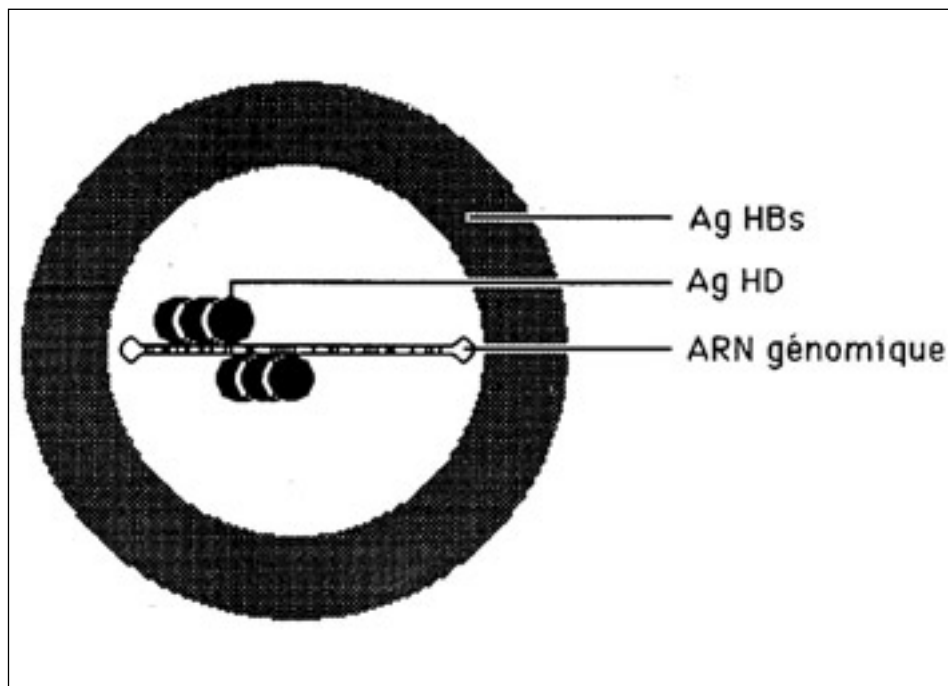


Figure 1 : Structure du virus de l'hépatite delta. Ag HBs : antigène de surface du virus de l'hépatite B ; Ag HD : antigène delta ; ARN : acide ribonucléique

comprend de nombreuses régions (70 %) d'appariement interne. L'existence de six cadres ouverts de lecture laisse penser que ce sont autant de candidats pour des gènes viraux. Le génome est riche en cytosine-guanine (60 %). L'Ag HD peut être détecté par immunodiffusion électrophorèse sous forme de deux protéines de 24 et 27 kilodaltons qui possèdent les mêmes épitopes antigéniques.

La composition antigénique de l'Ag HBs constituant l'enveloppe du VHD est plus proche des billes que des particules virales complètes du VHB, riches en protéines pré-S1 et pré-S2.

Le VHD est résistant à la chaleur (15 minutes à 100 °C) et est sensible aux enzymes protéolytiques.

II.3- Réplication [12, 6, 13] (figure 2)

Dans l'hépatocyte infecté, l'ARN du VHD est détecté sous forme génomique et antigénomique (anti-sens de l'ARN génomique) dans une proportion de 5 à 30 pour 1, respectivement. Le brin génomique est surtout monocaténaire tandis que le brin antigénomique est apparié avec le brin génomique pour former un ARN double brin. L'ARN génomique et l'ARN antigénomique sont détectés sous leur forme linéaire et circulaire et sous forme de dimères et trimères. La présence de ces multimères s'explique par une réplication en

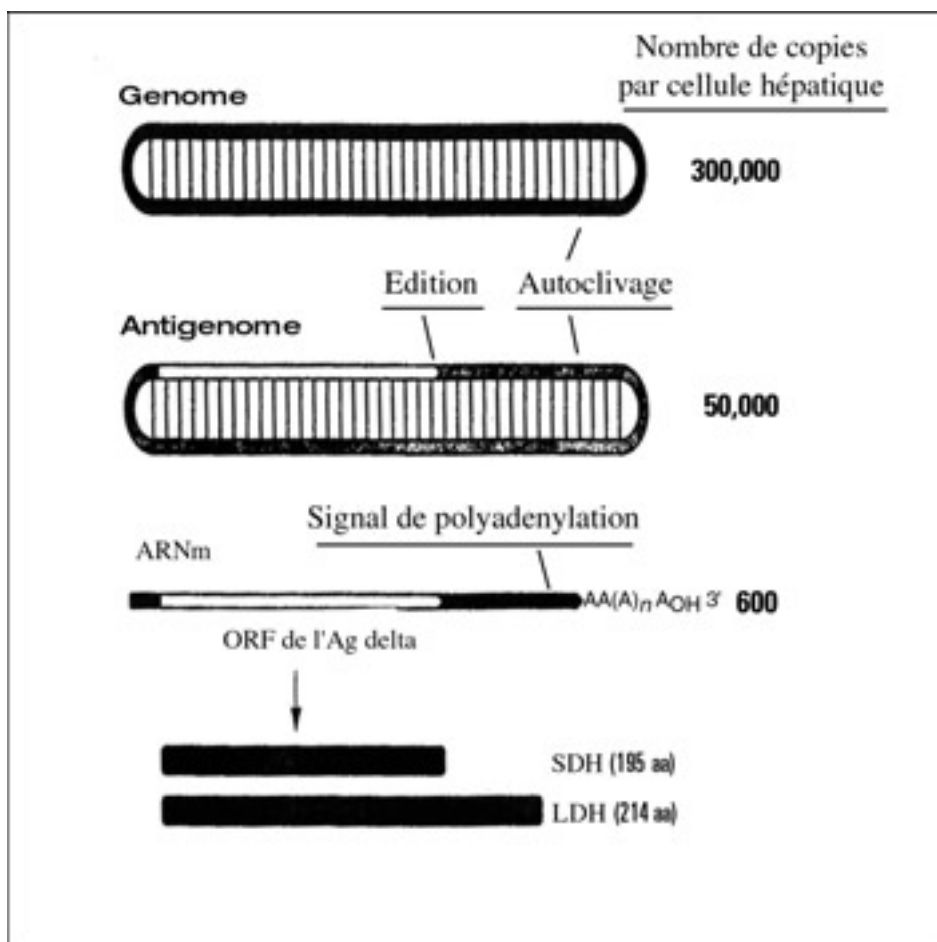


Figure 2 : Représentation schématique des formes d'ARN du virus delta et de l'antigène delta dans les cellules hépatiques infectées

cercle roulant. Les formes circulaires de brin antigénomique et génomique servent de matrice à la synthèse de multimères de brins complémentaires respectifs, lesquels sont clivés à un site spécifique pour générer des monomères. Ceux-ci sont ensuite re-circularisés pour entretenir le cycle de réplication et former la particule infectieuse, constituée d'un brin génomique circulaire complexé avec l'Ag HD. Ce cycle de réplication, localisé dans le noyau de l'hépatocyte infecté, s'effectue à l'aide d'une enzyme cellulaire qui n'a pas encore été identifiée. Il est probable que, comme un viroïde, le VHD utilise une ARN polymérase, profitant de sa structure d'ARN apparié pour tromper la machinerie cellulaire. Ce mécanisme est extrêmement efficace, une cellule infectée pouvant contenir jusqu'à 300 000 copies d'ARN du VHD.

Au cours de la réplication du VHD, une mutation sur la séquence de l'ARN, intervenant par l'intermédiaire d'une enzyme cellulaire chez chaque sujet infecté, conduit à l'apparition de génomes variants. Ces variants (jusqu'à 40 % de l'ensemble des génomes) codent pour un Ag HD plus large (LDH : 214 acides aminés, P27) que celui codé par le virus d'origine (SDH : 195 acides aminés, P24). Ce mécanisme, qui explique la présence de deux tailles d'Ag HD détecté par immuno-électrophorèse, aurait pour rôle de faciliter la survie de la cellule hôte, l'Ag HD P27 ne jouant pas de rôle amplificateur de la réplication virale comme le P24.

La séquence génomique du VHD (1 700 nucléotides) confère à l'ARN une forme en bâtonnet [15]. Dans les hépatocytes, l'ARN positif intermédiaire de réplication code pour deux protéines : SHD et LHD. Les deux protéines sont codées par le même cadre de lecture, mais au cours de la réplication un mécanisme d'édition transforme le codon de terminaison UAG de la protéine SHD en UGG (tryptophane). Ceci induit une extension carboxy-terminale de 19 acides aminés (20 pour le génotype II) et conduit à la synthèse de la protéine LHD [13]. Les deux protéines ont des propriétés très différentes : la protéine SHD est essentielle à la réplication de l'ARN viral, tandis que la protéine LHD l'inhibe [17]. L'existence d'une crémaillère à leucine (leucine zipper) située dans le tiers NH₂ terminal des 2 protéines HD permet, au cours de l'assemblage, la polymérisation des protéines SHD et LHD. L'existence d'un signal d'export nucléaire dans la partie carboxy-terminale de LHD permet la translocation des complexes nucléoprotéiques vers les membranes du réticulum endoplasmique. Les complexes bourgeonnent du réticulum puis sortent de la cellule avec une enveloppe exprimant la protéine HBs du VHB.

La réplication de l'ARN du VHD et la synthèse des Ag HD peuvent être obtenus *in vitro* par transfection de différentes lignées cellulaires (HuH7, HeLa, COS). Toutefois, la production de particules virales infectieuses nécessite obligatoirement une production conjointe de l'Ag HBs du VHB.

II.4- Interaction VHD et VHB [11]

L'infection par le VHD ne peut intervenir que par coinfection avec le VHB ou lors d'une surinfection d'un sujet infecté chroniquement par le VHB. Des études par transfection cellulaire ont apporté la preuve formelle de l'autonomie de réplication du VHD. Toutefois, en l'absence d'une infection concomitante par le VHB, l'ARN du VHD n'est pas excrété dans le milieu extracellulaire.

Ainsi, le rôle du VHB se limite à fournir une enveloppe au génome du VHD pour permettre la transmission de cellule à cellule et de sujet à sujet.

Le VHD inhibe la réplication du VHB. La quantité de VHB sérique et l'expression des antigènes viraux (Ag HBs, Ag HBc/e) sont diminuées au cours de l'infection chronique, les marqueurs de réplication du VHB sont généralement diminués, bien que ce phénomène soit discuté. Le mécanisme par lequel le VHD entraîne une inhibition de la réplication du VHB est en fait mal connu. Cette inhibition n'intervient pas par une compétition des deux virus pour une enzyme de réplication et pourrait être due à la production d'interféron, laquelle est induite par la présence d'ARN double-brin, donc potentiellement par la réplication du VHD. Cette hypothèse permettrait d'expliquer certaines différences observées entre les patients qui pourraient être attribuées à la production et/ou la réponse individuelle à l'interféron.

■ III. LES DIFFÉRENTES ÉTAPES DE L'INFECTION DUE AU VIRUS DE L'HÉPATITE DELTA

Tout comme le virus de l'hépatite B, le virus delta est transmis par le sang et les contacts intimes et peut-être sur le mode vertical.

III.1- Clinique [16, 3, 19, 4]

Sur le plan clinique, on fait une distinction selon que l'infection delta survient dans le cadre d'une coinfection avec le virus B (infection simultanée) ou d'une surinfection d'un porteur B par le virus delta (infection séquentielle) (tableau I).

Tableau I : Comparaison des deux formes d'hépatites delta (adapté de Hoofnagle)

Caractéristiques	Coinfection	Surinfection
Infection VHB	Aiguë	Chronique
Infection VHD	Aiguë	Aiguë ou chronique
Taux de mortalité	1-2 %	1-5 %
Taux de chronicité	2-7 %	70-90 %
Ag HBs sérique	+, transitoire	+, persistance habituelle
IgM anti-HBc	+	-
Anti-VHD	Transitoire faible titre	+, persistance croissante
IgM anti-VHD	+, transitoire	+, persistance habituelle
ARN VHD dans le sérum	+, persistance	+, persistance

III.1.1- Coinfection

Cliniquement, rien ne permet de distinguer les hépatites aiguës par coinfection VHB/VHD de celles dues au VHB seul, excepté une fréquence d'hépatites sévères (voire fulminantes) plus élevée. La période d'incubation (3 à 7 semaines) est inversement proportionnelle au

titre de VHB coinfectant. Une élévation biphasique des transaminases est observée dans 25 % des cas, le premier pic étant généralement dû à une phase de réplication du seul VHB. Le VHD n'augmente pas le risque de développer une infection chronique par le VHB. L'infection par le VHD dépend de la longueur de l'infection par le VHB. En cas d'évolution chronique de l'infection par le VHB (environ 10 % des cas chez l'adulte), une hépatite chronique delta peut alors s'installer.

III.1.2- Surinfection

Du fait de la pré-existence de cellules hépatiques productrices d'Ag HBs, le VHD trouve un terrain favorable à sa propagation dans le foie. Le VHD provoque une hépatite aiguë quelquefois résolutive, mais l'éventualité la plus fréquente (90 %) est le développement d'une hépatite chronique delta.

La surinfection par le VHD induit généralement une aggravation de la maladie hépatique. Dans environ 15-20 % des cas, la surinfection delta accélère très rapidement le cours de l'hépatite chronique conduisant à une insuffisance hépatique en 1 à 3 ans.

Certaines hépatites fulminantes sévères ont également été décrites.

Les modalités évolutives en cas de coinfection ou de surinfection sont indiquées dans la figure 3.

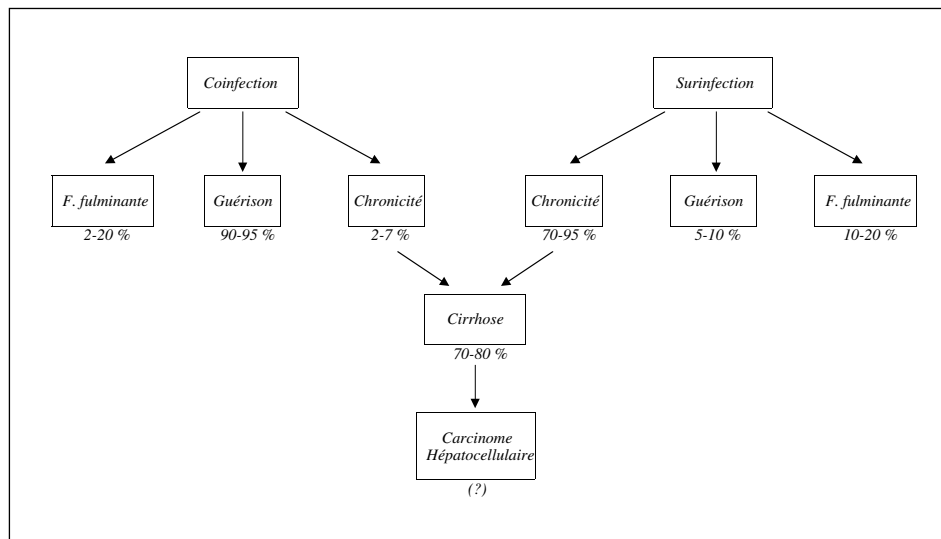


Figure 3 : Représentation schématique de l'évolution des infections par le virus delta selon qu'il s'agisse de coinfections ou de surinfections

III.2- Pathogénèse

La pathogénèse de l'hépatite due au VHD reste controversée. *In vitro*, la réplication du VHD a été associée à une mort cellulaire dans une étude, mais non dans une autre. Des études histologiques ont permis d'évoquer un effet cytopathique direct. Une étude immuno-histologique a suggéré un mécanisme indirect, via une réponse immunitaire cytotoxique, comme pour le VHB. Il existe une hypothèse en faveur d'un effet cytotoxique direct, basé sur le fait que des séquences complémentaires existent entre le brin antigéno-

mique du VHD et un ARN cellulaire -7S- impliqué dans le transport des protéines de membrane.

Selon ce modèle (non démontré), l'ARN antigénomique du VHD s'hybriderait *in vivo* avec cet ARN cellulaire 7S, bloquant certaines étapes du cycle cellulaire. Dans le cas d'un mécanisme direct lié à la séquence du VHD, des différences de pathogénicité pourraient être engendrées par des variations de séquence du génome viral. Ces variations pourraient se produire dans le temps, au cours de l'infection et/ou être observées d'un isolat à un autre, ce qui pourrait d'ailleurs expliquer la survenue d'épidémies sévères dues au VHD, comme celles qui ont été rapportées en Amérique du Sud.

■ IV. DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE

Les méthodes de diagnostic se sont développées durant les dernières années permettant souvent, lorsqu'on dispose de prélèvements séquentiels, de faire la part entre coinfection et surinfection [11, 6, 4, 5].

IV.1- Diagnostic direct

IV.1.1- Culture

Le VHD humain n'a jamais été propagé dans les systèmes cellulaires, par contre il peut être cultivé *in vivo* chez les singes sensibles au virus de l'hépatite B. Chez le chimpanzé, on peut reproduire coinfection ou surinfection, mais chez cet animal la réplication du VHD est en général plus faible que chez l'homme. Le VHD peut aussi infecter les marmottes porteuses du virus de l'hépatite de la marmotte (WHV).

On ne peut compter sur la culture *in vivo* ou *in vitro* en routine pour faire un diagnostic d'infection par le VHD.

IV.1.2- Mise en évidence des constituants viraux

Le diagnostic direct par recherche de génome ou d'antigène peut être tenté dans le foie ou dans le sérum.

Les titres atteints sont parfois élevés ; ainsi, dans des infections expérimentales, on a pu, chez le chimpanzé, rencontrer dans le sérum des titres infectieux de 10^{11} doses infectieuses par ml.

La détection d'ARN du VHD au niveau hépatique par hybridation en utilisant une sonde cDNA est bien corrélée avec la présence de l'Ag delta.

L'ARN du VHD intrahépatique est parfois sous forme de monomères linéaires (1,7 Kb). Le génome peut aussi être recherché par la même technique dans le sérum. On peut aussi pratiquer une recherche génomique par amplification génique ou polymérase chain reaction (PCR) en procédant comme pour l'ARN du VHC d'abord à une transcription de l'ARN en ADN grâce à la transcriptase reverse, puis à des amplifications avant d'identifier par hybridation le produit amplifié.

L'antigène HD est détecté dans le noyau des hépatocytes. Occasionnellement une présence cytoplasmique a été signalée. La recherche d'antigène est réalisée par immunofluorescence ou par immunoperoxydase.

L'Ag HD est également présent dans la particule infectieuse circulante. Il a la propriété de se fixer spécifiquement sur l'ARN génomique et antigénomique du VHD. La présence de l'antigène HD aiderait la réplication de l'ARN viral peut-être en maintenant l'ARN du VHD dans le noyau des cellules infectieuses, site de la réplication.

La recherche de l'Ag HD circulant peut être réalisée par technique radioimmunologique (RIA), par technique immunoenzymatique (ELISA) et par immunotransfert (Western-Blot). La technique ELISA est la plus utilisée.

Dans les sérums contenant des titres élevés d'anti-HD, l'Ag HD est masqué et sa présence ne peut être révélée que par traitement par des détergents et par immunotransfert.

Si l'antigénémie HD est de courte durée, la détection d'antigène au niveau des hépatocytes varie selon le tableau clinique. Transitoire en cas de coinfection, elle est prolongée en cas de surinfection.

IV.2- Diagnostic indirect [11]

On recherche soit des anticorps anti-HD totaux, soit les anti-HD dans la fraction IgM. L'interprétation se fait en examinant en parallèle l'antigénémie HD et les marqueurs du virus de l'hépatite B. La figure 4 montre l'évolution des marqueurs en cas de coinfection et de surinfection.

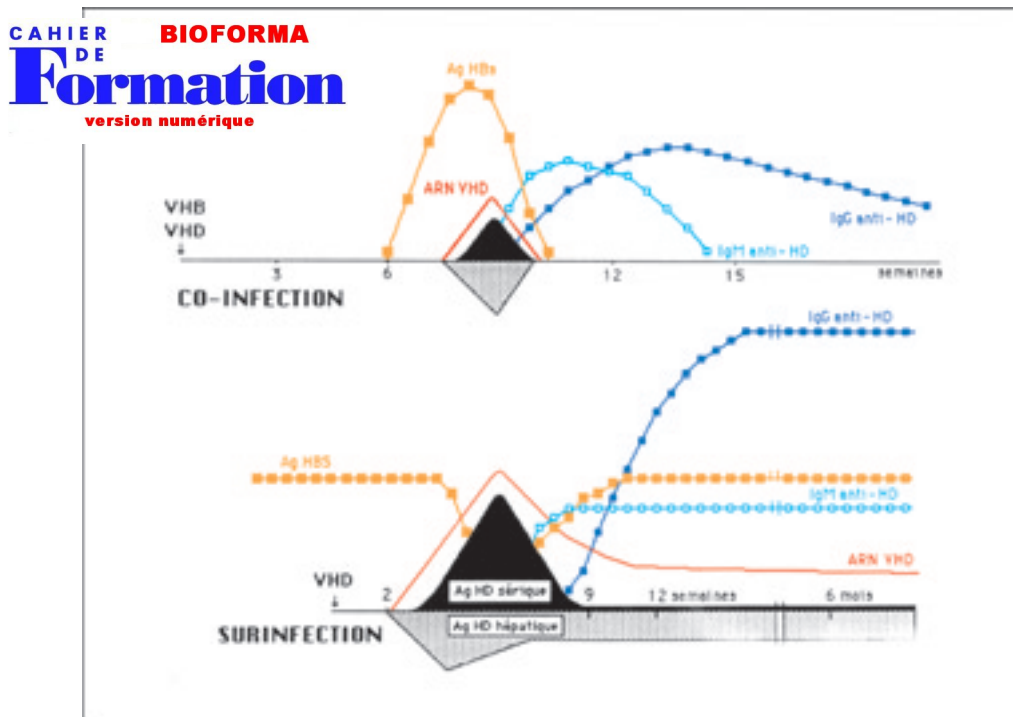


Figure 4 : Marqueurs sériques et tissulaires au cours de la coinfection VHB/VHD et au cours de la surinfection d'un porteur chronique de l'Ag HBs par le VHD

IV.2.1- Coinfection

Le diagnostic repose sur la présence d'Ag HBs et d'IgM anti-HBc de titre élevé (témoin d'une infection récente par le VHB) et d'Ag HD et/ou d'anti-HD, détectés par méthode immunoenzymatique. Toutefois, du fait de l'inhibition de la réplication du VHB induite par le VHD, l'Ag HBs peut être indétectable dans le sérum. Cette absence d'Ag HBs au moment du diagnostic peut concerner jusqu'à 10 % du nombre de ces coinfections. Cette éventualité doit être prise en compte lors de la démarche diagnostique d'une hépatite aiguë Ag HBs négative, mais IgM anti-HBc positive. Les marqueurs de la réplication du VHD (Ag HD retrouvé dans le foie par méthode immunoenzymatique et ARN du VHD détecté dans le sérum par hybridation moléculaire) peuvent être recherchés pendant une période variant de 1 à 4 semaines. Les anticorps anti-HD apparaissent après 2 à 5 semaines, les IgM faisant place en 1 à 2 semaines à des IgG, qui persistent à faible titre ($< 10^{-2}$). Dans certains cas, seule une apparition transitoire d'IgM témoigne de l'infection par le VHD.

IV.2.2- Surinfection

Si l'infection chronique par le VHB est connue, le diagnostic repose sur la mise en évidence d'une séroconversion pour les marqueurs du VHD (Ag HD et/ou anti-HD).

En l'absence de la connaissance d'une infection VHB antérieure, le diagnostic repose sur la mise en évidence des marqueurs du VHD (Ag HD et/ou anti-HD) et de l'Ag HBs, associés à l'absence d'IgM anti-HBc de titre élevé (absence témoignant d'un contact ancien avec le VHB).

Toutefois, le VHD induit fréquemment une diminution de la production d'Ag HBs, l'Ag HBs sérique pouvant même être indétectable pendant la phase aiguë de la surinfection [11] et parfois pendant plusieurs mois. Là encore, cette éventualité doit être prise en compte dans la démarche diagnostique d'une hépatite virale, les marqueurs du VHD pouvant donc être recherchés dans des cas d'hépatites Ag HBs négatif, anti-HBc positif. Dans certains cas, la surinfection delta peut amener une extinction complète de la réplication du VHB et de l'antigénémie HBs impliquant l'élimination des deux virus.

Dans la plupart des cas, après une phase de réplication intense du VHD (quelques semaines), l'Ag HBs sérique revient aux taux précédant la surinfection (voire quelque peu diminués). Au cours de l'infection aiguë, l'Ag HD peut être détecté transitoirement dans le sérum par immuno-enzymologie, mais il est rapidement masqué par des IgM et des IgG anti-HD qui persistent à titre élevé ($> 10^{-3}$). Au cours de l'hépatite chronique delta, les IgM anti-HD persistent généralement dans le sérum et ont ainsi été considérées comme étant un bon marqueur d'infection chronique par le VHD, mais ce fait a été récemment discuté. Il semble que les IgM anti-HD constituent plutôt un marqueur de l'agressivité de la maladie hépatique causée par le VHD. Les meilleurs marqueurs de l'infection chronique causée par le VHD sont la détection immuno-cytochimique de l'Ag HD intra-hépatique et la mise en évidence par hybridation moléculaire de l'ARN du VHD dans le sérum. Certains profils atypiques de l'infection par le VHD, consistant en une antigénémie HD prolongée sans apparition d'anti-HD, ont été rapportés chez des patients immunodéprimés et/ou infectés par le virus de l'immunodéficience humaine de type 1 (VIH1).

Si les marqueurs viraux sériques sont les plus faciles à obtenir, les données histologiques fournies par la biopsie hépatique aident au diagnostic. La recherche de l'ARN-VHD peut être demandée en appoint, mais elle n'est effectuée actuellement que dans des laboratoires spécialisés, car il n'existe pas de réactifs commercialisés.

La cinétique des marqueurs en cas de coinfection ou de surinfection est représentée de manière schématique (figure 4).

■ V. ÉPIDÉMIOLOGIE [11, 6, 5, 10]

Comme il a été dit, le virus est présent dans le sang, le foie et dans d'autres liquides biologiques dont des sécrétions génitales.

Du fait que l'infection par le VHD ne peut intervenir que par coinfection avec le VHB ou lors d'une surinfection d'un sujet infecté chroniquement par le VHB, l'épidémiologie et les modes de transmission du VHD ressemblent en partie à ceux du VHB.

En Europe du Nord et de l'Ouest (incluant l'Italie du Nord), aux États-Unis, où le portage chronique du VHB est peu fréquent (< 0,5 %), l'infection par le VHD se fait par voie parentérale et est pratiquement confinée aux toxicomanes exclusivement. Il est difficile d'évaluer actuellement l'incidence de l'infection par le VHD chez les porteurs chroniques du VHB dans cette population en France. De l'ordre de 20 % à 30 %, il y a une dizaine d'années, cette incidence a probablement chuté à moins de 5 % à l'heure actuelle, à l'image d'une observation réalisée en Italie du Nord. Concernant les femmes enceintes en France, une étude réalisée à la fin des années 1980 faisait état d'une prévalence de 13 % d'anti-HD chez les porteuses chroniques du VHB (soit 0,07 % des femmes testées) ; la moitié de ces femmes Ag HBs+/anti-HD+ provenaient d'Extrême-Orient [7].

Sur le pourtour méditerranéen, tout particulièrement en Italie du Sud, en Grèce et au Moyen-Orient, où la fréquence du portage chronique du VHB est intermédiaire (1 % à 5 %), l'infection par le VHD est variable mais à tendance élevée : 10 % à 20 % des porteurs chroniques du VHB sont infectés par le VHD. Dans ces régions, la transmission intra-familiale du VHD a été suggérée, comme pour le VHB. Là encore, une étude récente a montré que la prévalence du VHD en Italie du Sud avait diminué ces dix dernières années, passant de 30 % à moins de 20 %.

En Afrique et en Asie, où le portage chronique du VHB est de fréquence élevée (10 % à 20 %), ainsi qu'en Amérique du Sud et dans les îles du Pacifique, où elle est intermédiaire (1 % à 5 %), la fréquence de l'infection par le VHD est extrêmement variable d'une région à une autre. Ainsi, des prévalences du VHD de moins de 1 % ou de plus de 50 % ont été observées à quelques kilomètres de distance (y compris chez des femmes enceintes), malgré une fréquence du portage chronique du VHB uniforme. Ces variations observées à l'échelle mondiale ou régionale restent inexplicables, mais semblent simplement refléter des différences de pénétration de l'infection par le VHD dans diverses populations.

La transmission verticale mère-enfant est peu documentée. On peut tenter de représenter l'épidémiologie mondiale du VHD à l'aide d'une carte de la planète (figure 5).



Figure 5 : Carte planétaire indiquant la fréquence des marqueurs VHD chez les porteurs d'Ag HBs selon les zones géographiques

■ VI. TRAITEMENT

VI.1- Préventif

La prophylaxie des infections par le VHD se superpose à celle du VHB dans la mesure où le virus delta a besoin du VHB pour se développer. La vaccination contre l'hépatite B permet à la fois de prévenir les hépatites B et delta.

Des essais vaccinaux VHD utilisant des peptides VHD synthétisés sont en cours, mais la cible de ces vaccins ne concernerait que les porteurs chroniques de VHB non encore infectés par le virus delta.

Le dépistage systématique des donneurs porteurs de l'Ag HBs et l'exclusion de ceux-ci aux dons de sang permettent d'exclure le risque de transmission de ces deux virus B et D par transfusion.

La prévention des infections par le virus delta relève donc des précautions d'hygiène générale, matériel à usage unique lors des soins et par échange de seringues et aiguilles chez les drogués par voie IV.

VI.2- Curatif

Au cours des hépatites chroniques D, seul l'interféron α est efficace, mais la réponse au traitement est moins bonne que dans le traitement des hépatites B. La posologie proposée est habituellement forte (de l'ordre de 9 à 10 millions d'unités par injection, 3 fois par semaine) et prolongée pendant au moins un an.

Les traitements lourds permettent une éradication virale dans la moitié des cas environ, avec un risque élevé de rechute.

Certaines molécules ont été testées sur l'hépatite de la marmotte ou sur culture cellulaire (hépatocytes de marmottes) et ont montré une certaine efficacité *in vitro* telles que la suramine, l'acyclovir, la ribavirine mais n'ont pas confirmé *in vivo* cette efficacité ; pas plus que l'immunomodulateur (octapeptide synthétique THF γ -2).

La récurrence de l'infection virale D sur foie transplanté est moins fréquente que celle par le VHB. Elle est également moins sévère.

L'administration continue systématique d'immunoglobulines anti-HBs diminue comme pour le VHB, le risque de récurrence VHD après transplantation.

■ VII. CONCLUSION

Les modes de contamination par les deux virus VHB et VHD étant identiques, il est évident que les probabilités de coinfection ou de surinfection soient élevées. La vaccination contre l'hépatite B protège bien sûr également contre les infections par le VHD.

L'interaction entre les deux virus est complexe et parfois difficile à analyser. Elle est encore plus délicate chez les sujets séropositifs VIH.

La reconnaissance des infections delta est importante pour mieux analyser les signes cliniques au cours des infections à VHB. La recherche d'une infection delta s'impose également avant l'instauration de traitements antiviraux d'une hépatite B.

En pratique, on peut recommander la recherche des marqueurs delta chez tout porteur d'Ag HBs. Mais, si on veut pratiquer une recherche plus ciblée, on peut la limiter à des circonstances précises :

- hépatite aiguë survenant chez un porteur chronique connu de l'Ag HBs ;
- hépatite aiguë sévère survenant chez un sujet :
 - * à risque (toxicomane) ;
 - * venant de zone endémique (Europe du Sud, Proche Orient, Afrique) ;
- rechute d'une hépatite B aiguë.

BIBLIOGRAPHIE

- 1- CASEY J.L., BROWN T.L., COLAN E.J., WIGNALL F.S., GERIN J.L. A genotype of hepatitis D virus that occurs in northern South America. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1993 ; 90 : 9016-9020.
- 2- CASEY J.L., NIRO G.A., ENGLE R.E., VEGA A., GOMEZ H., McCARTHY M., WATTS D.M., HYAMS K.C., GERIN J.L. Hepatitis B virus (HBV)/hepatitis D virus (HDV) coinfection in outbreaks of acute hepatitis in the Peruvian Amazon Basin : the roles of HDV genotype III and HBV genotype F. *J. Infect. Dis.*, 1996 ; 174 : 920-926.
- 3- CONJEEVARAM H.S., DI BISCEGLIE A.M. Hepatitis D virus : Natural history. In « Viral hepatitis » A.J. Zuckerman, H.C. Thomas. Second Ed. Churchill Livingstone, London 1998, 379-385.
- 4- KARAYIANNIS P. Hepatitis D virus. *Rev. Med. Virol.*, 1998 ; 8 : 13-24.
- 5- MANIEZ-MONTREUIL M. Diagnostic sérologique de l'infection par les virus des hépatites B et delta. *Immunoanal. Biol. Spec.*, 1991 ; 26 : 23-32.
- 6- POISSON F., ROINGEARD P., GOUDEAU A. Le virus de l'hépatite delta : un mode de réplication bien singulier. *Médecine/Sciences*, 1995 ; 11 : 1379-1387.
- 7- RANGER S., MOUNIER M., DENIS F., ALAIN J., BAUDET J., TABASTE J.L., DELPEYROUX C., ROUSSANE M.C. Prévalence des marqueurs des virus des hépatites B (Ag HBs, Ag HBe, ADN) et delta chez près de dix mille femmes enceintes à Limoges (France). *Path. Biol.*, 1990 ; 38 : 694-699.
- 8- RIZZETTO M. The delta agent. *Hepatology*, 1983 ; 3 : 729-737.
- 9- RIZZETTO M., CANESE M.G., ARICO S., CRIVELLI O., TREPO C., VERNE G. Immunofluorescence detection of a new antigen-antibody system (δ /anti- δ) associated to hepatitis B virus in liver and serum of HBs Ag carriers. *Gut*, 1977 ; 18 : 997-1003.
- 10- ROINGEARD P. Virus delta. In « Virus transmissibles de la mère à l'enfant » F. Denis Ed. John Libbey Eurotext, Paris 1999, p. 120-124.
- 11- ROINGEARD P., DENIS F., RANGER S. Diagnostic virologique des infections par le virus de l'hépatite delta (VHD). *L'Eurobiologiste*, 1992 ; 26 : 277-285.
- 12- ROINGEARD P., DUBOIS F., GOUDEAU A. Le virus de l'hépatite delta. *Gastroenterol. Clin. Biol.*, 1991 ; 15 : 428-436.
- 13- ROINGEARD P., DUBOIS F., GOUDEAU A. Epidémiologie, biologie, diagnostic, histoire naturelle et traitement de l'hépatite virale D. In « Hépatites virales » C. Trépo et D. Valla Coordinateurs. Doin, Paris 1993, p. 89-102.
- 14- SHAKIL A.O., HADZIYANNIS S., HOOFNAGLE J.H., DIBISCEGLIE A.M., GERIN J.L., CASEY J.L. Geographic distribution and genetic variability of hepatitis delta virus genotype I. *Virology*, 1997 ; 234 : 160-167.
- 15- SUREAU C. Le virus de l'hépatite Delta et sa réplication. *Virologie*, 1997 ; 1 : 51-59.
- 16- TAYLOR J.M. Hepatitis delta virus. *Intervirolgy*, 1999 ; 42 : 173-178.
- 17- WANG K.S., CHOO Q.L., WEINER A.J., OU J.H., NAJARIAN R.C., THAYER R.M., MULLENBACH G.T., DENNISTO K.J., GERIN J.L., HOUGHTON M. Structure, sequence and expression of the hepatitis delta viral genome. *Nature*, 1986 ; 323 : 508-514.

- 18- WU J.C., CHIANG T.Y., SHEEN I.J. Characterization and phylogenetic analysis of a novel hepatitis D virus strain discovered by restriction fragment length polymorphism analysis. *J. Gen. Virol.*, 1998 ; 79 : 1105-1113.
- 19- ZUCKERMAN A.J., THOMAS H.C. Viral hepatitis. Second Ed. Churchill Livingstone London 1998, 359-393.

LE VIRUS DE L'HÉPATITE C

F. DUBOIS

(Laboratoire de Virologie, CHU Bretonneau, Tours)
(Institut InterRégional pour la Santé (IRSA), La Riche)

CAHIER DE **BIOFORMA**
Formation
version numérique

À partir de 1970, la mise au point de tests pour le diagnostic des infections par les virus des hépatites A et B a permis de mettre en évidence que certaines hépatites virales post-transfusionnelles n'étaient pas dues à l'un ou l'autre de ces virus [29]. L'utilisation du chimpanzé comme modèle expérimental permit de démontrer dès 1978, l'existence d'un agent transmissible par voie parentérale responsable de ces hépatites dénommées à l'époque « non-A non-B ». L'identification de cet agent, le virus de l'hépatite C (VHC), fut réalisée en 1988 grâce à des techniques de biologie moléculaire de clonage et de séquençage. Pour la première fois dans l'histoire de la virologie, un virus était identifié par son génome sans qu'ait été isolée la particule virale elle-même [10]. L'identification de ce génome a ouvert la voie à la mise au point de troupes diagnostiques permettant soit la recherche d'anticorps témoignant d'un contact avec le VHC (anti-VHC) soit la mise en évidence de la présence du génome du virus (recherche de l'ARN du VHC).

I. CARACTÉRISTIQUES DU VIRUS

Le VHC est un petit virus enveloppé d'environ 50 nm de diamètre qui a été visualisé en microscopie électronique [86] (figure 1). L'ARN viral est contenu dans une capsidie protéique à symétrie icosaédrique elle-même située à l'intérieur d'une enveloppe lipidique dans laquelle sont insérées les protéines virales d'enveloppe. Du fait de l'absence de système de réplication *in vitro* ou de conditions d'infection naturelle permettant la production suffisante de particules virales, les virions n'ont pas pu être totalement caractérisés de façon morphologique ou biochimique. Seule l'organisation génomique du VHC a été identifiée.

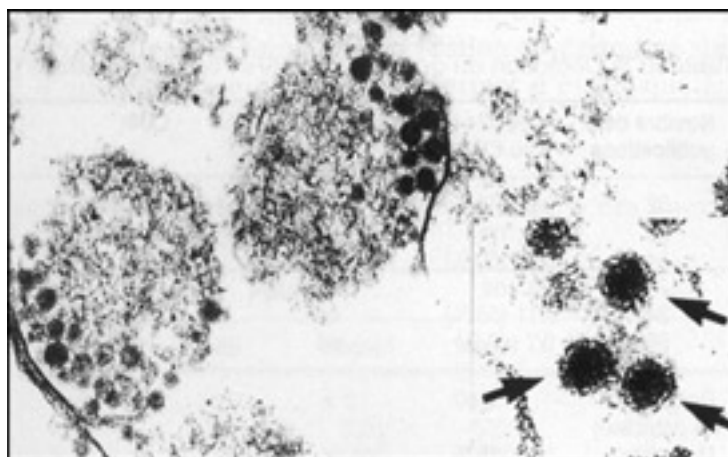


Figure 1 : Particules virales du virus de l'hépatite C en microscopie électronique [86]

I.1- Classification taxinomique

Par analogie avec d'autres virus à ARN de polarité positive (picornavirus et flavivirus notamment), le VHC a été classé dans la famille des *Flaviviridae* comprenant deux genres les Flavivirus et les Pestivirus [81]. L'absence de vecteur, l'existence d'un seul hôte naturel (l'homme), la possibilité d'infection chronique, ont conduit à constituer un nouveau genre au sein de cette famille : les Hepacivirus (figure 2). L'organisation et la maturation du précurseur polyprotéique du VHC le rendent plus proche d'un Pestivirus que d'un Flavivirus [83].

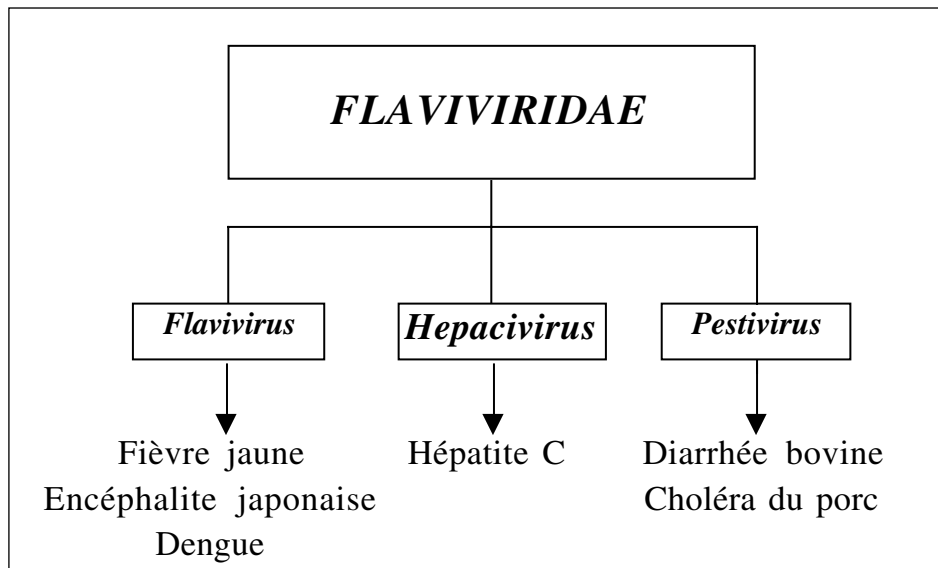


Figure 2 : Classification taxinomique du virus de l'hépatite C

I.2- Organisation génétique

Le génome du VHC est constitué d'un ARN monocaténaire de polarité positive, comprenant environ 9 400 nucléotides (figure 3). Les régions non codantes (NC), situées aux extrémités 5' et 3' du génome, encadrent une phase unique de lecture qui code pour une polyprotéine d'environ 3 000 acides aminés. La polyprotéine, secondairement clivée par des protéases cellulaires et virales, génère des protéines virales structurales et non structurales [38]. Les protéines structurales sont situées à l'extrémité N-terminale de la polyprotéine et sont codées par le premier tiers du génome. Les deux tiers restants codent pour des protéines non structurales.

I.2.1- La région 5'NC

Cette région de 341 nucléotides est la plus conservée du génome. Elle contient un site interne d'entrée des ribosomes cellulaires (IRES : Internal Ribosome Entry Site) impliqué dans l'initiation de la traduction [94].

I.2.2- La région 3'NC

De longueur variable, située en aval de la phase unique de lecture, elle comporte une structure hautement conservée d'environ 27 à 45 nucléotides dont le rôle reste inconnu. Cette région se termine par une queue polyU ou polyA [47].

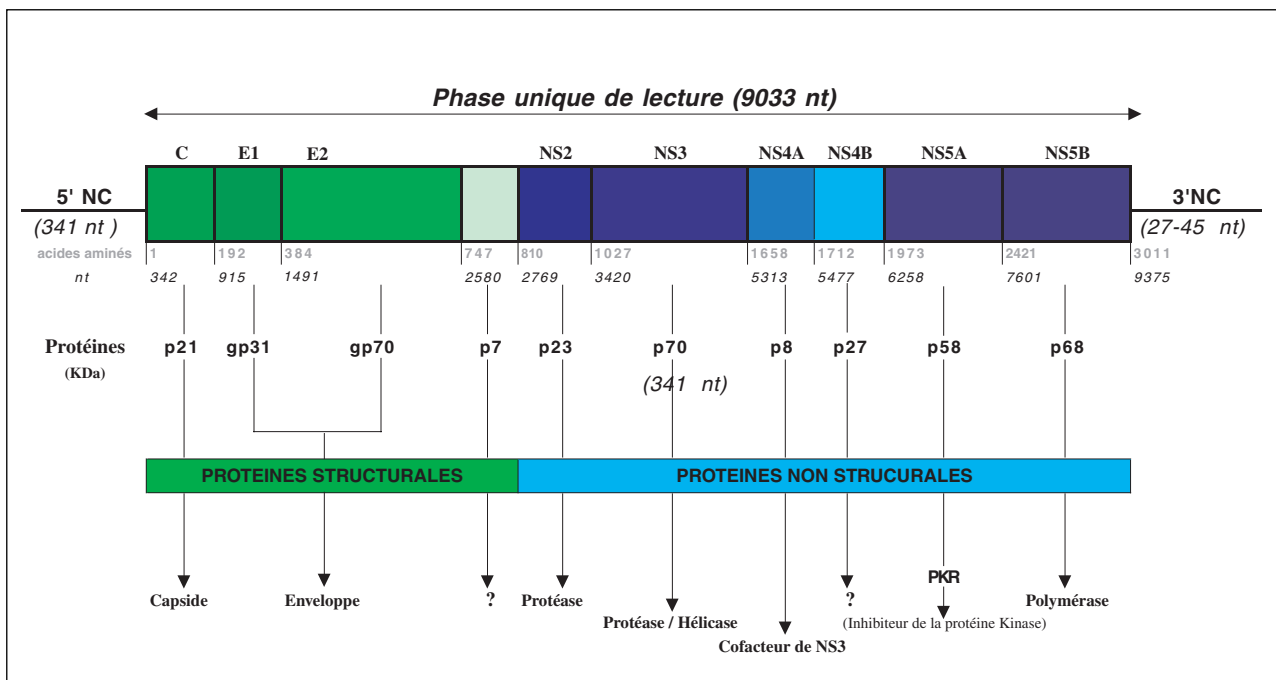


Figure 3 : Organisation génétique du virus de l'hépatite C

I.2.3- Région codant pour les protéines virales

I.2.3.1- Protéines structurales

Les protéines structurales sont situées à l'extrémité N-terminale de la polyprotéine (figure 3). Des études *in vitro* et *in vivo* ont montré que les protéines p21 s'associaient entre elles pour former la capsidite du virion [58]. Une activité de liaison de cette protéine aux ARN viraux serait à l'origine de la formation des nucléocapsides viraux. Les deux glycoprotéines d'enveloppe (E1 ou gp31 et E2 ou gp70) sont ancrées dans les membranes cellulaires. Le rôle d'une dernière protéine (p7) reste inconnu.

I.2.3.2- Protéines non structurales

Quatre protéines non structurales (NS) suivent à l'extrémité C-terminale de la polyprotéine. La protéine NS2 (p23) associée à la protéine NS3 a une fonction de protéase, responsable du clivage de NS2/NS3. La protéine NS3 (p70) possède plusieurs fonctions. La partie N-terminale présente une activité protéase, impliquée dans le clivage de la polyprotéine aux jonctions NS3/NS4 et NS4/NS5. La région C-terminale quant à elle possède une activité hélicase impliquée dans le déroulement de l'ARN génomique viral nécessaire à sa réplication [42]. La région NS4 code pour deux protéines : la NS4A (p8), cofacteur indispensable à l'activité protéasique de NS3 [26], et la NS4B (p27) dont le rôle n'est pas élucidé. La région NS5 code pour deux protéines : la NS5A (p58) de fonction inconnue et la NS5B (p68) qui possède une activité polymérasique [52].

I.3- Cycle de réplication

Le mécanisme de réplication du VHC est encore mal connu du fait d'une réplication inefficace dans les systèmes de culture *in vitro* et de l'existence d'un modèle animal unique et

de surcroît protégé, le chimpanzé. Toutes les caractéristiques du mécanisme de la réplication virale ont été observées dans les lignées cellulaires Daudi. Cependant, elle s'avère inefficace car le virus n'est détectable qu'après une amplification génomique et sa teneur dans les surnageants n'excède pas celle des sérums de patients infectés [61].

La cible principale du VHC est l'hépatocyte, mais aucun récepteur spécifique permettant l'entrée du virus dans les hépatocytes n'a pu être identifié. Des lipoprotéines de faible densité (LDL) seraient capables de se fixer sur le virus et l'interaction entre ces lipoprotéines et leurs récepteurs spécifiques situés à la surface de la membrane des hépatocytes semblerait faciliter l'entrée du VHC [78]. Un certain nombre d'arguments suggèrent que la glycoprotéine E2 serait responsable de la fixation du VHC aux cellules cibles. La molécule CD81 a été identifiée comme le ou l'un des probables récepteurs du VHC lors de la phase précoce d'interaction virus-cellule [72]. Cette protéine de 22 kDa, appelée également TAPA1, est exprimée à la surface de nombreux types cellulaires. En présence de la protéine E2, l'inhibition de la fixation d'un anticorps anti-CD81 à son ligand CD81 a confirmé l'interaction entre la molécule CD81 et la protéine E2.

Par analogie avec les autres virus à ARN monocaténaire de polarité positive, on suppose qu'après le passage du virus dans le cytoplasme, l'ARN est directement traduit en protéines et sert de matrice pour la synthèse de brins d'ARN de polarité négative. Ces intermédiaires de réplication serviraient à la synthèse de brins d'ARN de polarité positive par la polymérase virale. Ces ARN messagers seraient alors traduits en protéines virales. Les mécanismes d'assemblage et de sortie du virion ne sont pas établis. Aucune intégration de l'ARN viral dans le génome de la cellule hôte n'a été rapportée. Le tropisme du VHC ne se limiterait pas à l'hépatocyte. Des séquences d'ARN VHC et des intermédiaires de réplication ont été aussi détectés dans les cellules mononucléées du sang périphérique par PCR et hybridation *in situ* [60]. Ce site extra-hépatique constituerait un autre réservoir du virus dans l'organisme.

I.4- Variabilité génétique

La comparaison des séquences d'un grand nombre d'isolats de VHC provenant d'individus de différentes régions géographiques a montré que la variabilité génétique de la séquence nucléotidique du VHC est très importante. Cette variabilité génétique, estimée à 2×10^{-3} substitutions par site et par an [89], est liée à un défaut de l'activité correctrice de l'ARN polymérase. Cette variabilité n'est pas répartie de façon homogène sur l'ensemble du génome. La région 5'NC est très fortement conservée avec plus de 90 % d'homologie entre les souches [7]. La région codant pour la capsid est conservée à un degré moindre avec 81 à 88 % d'identité entre les souches [87]. Les autres régions du génome présentent une variabilité de séquence comprise entre 57 % pour la région NS2 et 70 % pour les séquences des autres protéines non structurales. La région la plus variable du génome est la séquence codant pour les glycoprotéines d'enveloppe E1 et E2 (avec respectivement 53 % et 62 % d'identité pour E1 et E2). Certaines zones des protéines d'enveloppe présentent plus de 50 % de variation nucléotidique entre les isolats : ce sont des régions hypervariables (HVR). Le domaine « hypervariable » HVR 1 de 27 acides aminés situé dans la région N-terminale de la protéine E2 présente un taux de mutations élevé probablement lié à une pression de sélection du système immunitaire [45, 98]. L'apparition de mutations

ponctuelles entraîne chez l'hôte infecté la coexistence de variants viraux. Ces populations de virus ayant une origine commune, mais des séquences génomiques distinctes sont appelées quasi-espèces [27].

Suivant le degré de divergence entre les souches, une classification en génotypes (chiffre) et sous-types (chiffre + lettre) a été établie. Les isolats présentant environ 70 % d'identité appartiennent au même génotype. Au sein d'un génotype, les souches ayant plus de 85 % d'identité appartiennent au même sous-type. La classification de Simmonds, basée sur la comparaison des régions 5' non codantes, est généralement adoptée [88]. D'autres régions du génome ont été utilisées par la suite (capside, NS5), elles ont conduit à une classification voisine. À l'heure actuelle, six génotypes viraux et plus de soixante dix sous-types ont été identifiés.

La plupart des génotypes du VHC ont une répartition mondiale. Les génotypes 1, 2 et 3 sont ubiquitaires. Le sous-type 1b est le plus fréquent au Japon et en Europe de l'Ouest. Le sous-type 1a est plus rare dans ces zones, mais relativement important aux États-Unis. Le génotype 2 est plus fréquent au Japon et en Chine que dans les autres pays. Le génotype 3 est rare au Japon, mais fréquent dans les pays européens et en Inde. Les génotypes 4, 5 et 6 ont une répartition plus localisée. Le génotype 4 est majoritaire dans certains pays africains (Cameroun, Gabon, Côte d'Ivoire, République Centrafricaine, Égypte). Le génotype 5 a été localisé en Afrique du Sud et reste relativement rare. Le génotype 6, découvert à Hong-Kong où un tiers des donneurs de sang sont infectés par le VHC le sont par ce génotype, est essentiellement localisé dans les pays d'Asie du Sud Est [97].

En France, le sous-type 1b prédomine : 40 % des cas, les sous-types 1a et 3a représentant 25 % des cas et le type 2 environ 10 %. Le type 4 est rare et les types 5 et 6 ne sont rencontrés que très exceptionnellement. Une relation existe entre génotype viral et mode de contamination. Ainsi, le génotype 1b prédomine chez les sujets contaminés par transfusion ou n'ayant pas de facteur de risque identifié, alors que les génotypes 1a et 3a sont majoritaires chez les toxicomanes [68, 24].

■ II. ÉPIDÉMIOLOGIE

II.1- Facteurs de risque

Les modes de transmission les mieux connus sont liés à l'inoculation de sang contaminé par le virus [85]. Si la présence du VHC a été clairement prouvée dans le sang de sujets infectés, elle est très controversée dans les autres liquides biologiques (sperme, urine, sécrétions vaginales et lait maternel). Il en découle que les modes de transmission principaux du VHC sont la transfusion sanguine, la toxicomanie par voie intraveineuse et l'utilisation de matériel souillé mal stérilisé.

II.1.1- Risque transfusionnel

Les dérivés stables issus du fractionnement du plasma ne transmettent plus le VHC depuis l'introduction de techniques efficaces d'inactivation virale en 1987. À noter que les immu-

noglobulines françaises du fait de leur mode de fabrication (alcool pour les Ig IM et pH acide pour les Ig IV) n'ont jamais transmis le VHC.

La transfusion de produits sanguins stables avant 1987 et dérivés sanguins labiles avant 1991 (culots globulaires, concentrés plaquettaires et leucocytaires, plasma frais congelé, fractions anti-hémophiliques et immunoglobulines) a été une source importante de contamination par le VHC [92]. Ce risque avait été estimé entre 5 et 18 % dans des études des années 70-80. Dans une étude réalisée aux États-Unis sur des sujets transfusés entre 1985 et 1991 [22], le risque de transmission du VHC par transfusion était de 3,84 % par patient avant l'exclusion des dons présentant un taux élevé de l'alanine-aminotransférase (ALAT) ou une positivité vis-à-vis de l'anticorps anti-HBc. Ce risque est passé à 1,54 % avec l'introduction de ces deux marqueurs indirects en 1986, puis à 0,57 % avec les premiers tests de dépistage anti-VHC au début des années 90. Le risque d'hépatite post-transfusionnelle dépendait du type de produit transfusé, du nombre d'unités de sang injectées et de la date de transfusion. Ainsi, les sujets polytransfusés ont été particulièrement touchés par la maladie, notamment les hémophiles (jusqu'à 70 % de sujets contaminés) [25].

En France, l'élimination des poches de sang ayant un taux d'ALAT supérieur à deux fois la normale en avril 1988, ainsi que celles contenant des anticorps anti-HBc en octobre 1988, a permis de diminuer de 30 à 50 % le risque d'hépatite post-transfusionnelle. L'utilisation des tests ELISA anti-VHC de première génération en 1990 puis de deuxième génération en 1991 et enfin de troisième génération en 1993 a abouti à la quasi-disparition de ce mode de transmission [96]. Toutefois la transmission du VHC reste possible à l'occasion de dons contemporains de la période (66 jours en moyenne) dite de « fenêtre sérologique » au cours de laquelle les anticorps anti-VHC ne sont pas encore décelables alors que le VHC est déjà présent. En raison de ce risque résiduel, estimé pour la période 1997-99 à 1 don infectieux pour 700 000 dons [82], le principe de la détection génomique virale (DGV) ou de la recherche de l'Ag VHC chez les donneurs de sang a été étudié. Le coût des infections évitées par l'ajout de l'une ou l'autre de ces techniques dans la qualification biologique du don est considérable pour la collectivité ; une année de vie gagnée coûterait 500 MF [82]. Bien que ce coût soit largement supérieur au coût habituellement consenti dans le domaine de la santé publique, la décision politique du DGV a été prise et devrait être effective à compter du 1^{er} juillet 2001.

II.1.2- Risque dû à l'usage de drogue

Les mesures de prévention telles que la mise en vente libre de seringues et de kits de prévention n'ont pas stoppé la diffusion du VHC chez les usagers de drogues. Dans cette population, la prévalence atteint 75 % et l'incidence est estimée à 20 % personnes par année. D'autre part, le risque de transmission ne se limite pas à l'échange de seringue, le matériel de préparation (cupule, coton... pour l'usage intraveineux) ou le partage de la paille (pour la prise nasale) semble être à l'origine de contaminations [16, 44].

II.1.3- Autres facteurs de risque

II.1.3.1- Transmission sexuelle

La transmission sexuelle a été évoquée devant la constatation d'une séroprévalence majorée chez les conjoints de sujets infectés par le VHC. Ce risque est très faible et les études

de séroprévalence ne permettent pas d'affirmer la transmission par l'intermédiaire des sécrétions vaginales ou du sperme. En effet, la transmission pourrait être sanguine suite au partage d'objets de toilette tels que : rasoir, coupe-ongles, brosse à dents [5, 99, 15].

II.1.3.2- Transmission intra-familiale

La transmission intra-familiale a également été évoquée suite à l'observation d'une séroprévalence élevée du VHC chez des personnes vivant sous le même toit et n'ayant pas de rapports sexuels. Comme précédemment, l'utilisation d'objets usuels par un ou plusieurs membres de la famille pourrait être à l'origine d'une transmission parentérale dont les modalités sont difficilement identifiables [18].

II.1.3.3- Transmission mère-enfant

La contamination est probablement périnatale et l'allaitement maternel ne constitue pas un facteur de risque augmentant significativement le risque de transmission. Le risque de transmission est majoré en cas de charge virale élevée, situation plus fréquente chez les mères co-infectées par le VIH. Chez les femmes non co-infectées, le risque de transmission du VHC est de l'ordre de 4 à 5 %. En revanche, il est estimé à 20 % chez les mères co-infectées VIH-VHC [12, 91, 39]. Une étude récente a montré que la césarienne programmée diminuait significativement le risque de transmission par rapport à la voie basse ou la césarienne en urgence [33]. Ces résultats n'étant pas confirmés par d'autres études et le risque de transmission étant faible, la césarienne programmée chez les mères virémiques n'est pas recommandée. L'augmentation du risque de transmission materno-fœtale liée à l'amnioctomie, aux forceps ou à l'épisiotomie n'a pas été évaluée.

II.1.3.4- Transmission nosocomiale

L'étude de chaîne de transmission a permis de prouver qu'en dehors de toute transfusion, la transmission du VHC est possible dans les centres d'hémodialyse [49]. Elle s'explique par le non respect des règles d'hygiène et des précautions universelles à la suite d'un acte médical comme par exemple la pose de cathéters. La possibilité de transmettre le VHC à la suite d'exploration invasive telle qu'une endoscopie avec biopsies a été aussi démontrée [6]. Ce type d'observation laisse supposer que tout acte (médical ou non) pour lequel les règles d'hygiène ne sont pas respectées peut être à l'origine d'une transmission du VHC. Les soins dentaires ou les tatouages en sont un exemple. Ce type d'exposition au risque, dont l'identification n'est pas toujours aisée, explique très probablement la plupart des infections par le VHC considérées comme d'origine inconnue.

II.1.3.5- Risque professionnel

Pour les professions de santé, le risque est faible, mais il ne doit pas être négligé. Il se limite pour l'essentiel aux accidents d'exposition au sang avec une aiguille creuse ayant servi aux soins d'un patient infecté par le VHC. Dans cette circonstance, le risque a été estimé à 1,2 % [80].

II.2- Prévalence

Le nombre de porteurs chroniques dans le monde est de l'ordre de 170 millions. La séro-prévalence est de 0,5 % à 5 % selon les pays, avec une prévalence moyenne mondiale d'environ 3 % [9]. Aux États-Unis, la prévalence de l'hépatite C est de 1,8 % [1]. En Europe, la proportion de sujets infectés varie de 0,5 % à 2 % (soit plus de 5 millions de sujets) selon un gradient nord-sud (0,003 % en Suède contre 2 % en Espagne) [93]. L'est de l'Europe est également plus touché que l'ouest ; ainsi en Roumanie, la prévalence atteint 4,5 % [62].

En France, en 1994, l'action concertée sur l'épidémiologie de l'hépatite C a permis d'estimer le taux moyen de séroprévalence à 1 % avec des variations importantes selon la région, le sexe et l'âge. Ces variations sont le reflet des modes de transmission du VHC. Une pratique plus fréquente de la toxicomanie intraveineuse notamment chez les hommes de moins de 40 ans explique la plus forte prévalence dans certaines régions (1,7 % en Provence-Alpes-Côte d'Azur contre 0,8 % en région Centre). Le plus haut niveau de séro-prévalence chez les femmes de 40-60 ans (1,39 %) par rapport aux hommes de la même tranche d'âge (0,06 %) s'explique par une pratique plus répandue des transfusions du post-partum avant l'émergence du VIH. Enfin, la prévalence plus élevée après 60 ans (4 %) est probablement la conséquence de soins médicaux dans les années 1960-1980 avant que l'usage du matériel à usage unique se généralise [19, 20, 24].

II.3- Incidence

Avec la mise en place, depuis 1990, du dépistage systématique des anticorps anti-VHC chez les donneurs de sang et l'amélioration constante des réactifs utilisés pour ce dépistage, le risque de transmission du VHC est devenu extrêmement faible. Il a été estimé, pour l'année 1999 en France, à 4 dons potentiellement infectieux [73].

Quelle est la situation de l'incidence de l'hépatite C en France ? La seule estimation repose sur les cas de séroconversion entre 2 dons de sang. L'incidence pour 100 000 personnes années est passée de 2,5 (I.C. à 95 % : 1,3-4,7) pour la période 1993-94 à 1,25 (I.C. à 95 % : 0,9-1,8) pour la période 1996-98 puis 0,8 (I.C. à 95 % : 0,5-1,3) pour la période 1997-99 [73]. Les facteurs de risque les plus fréquemment retrouvés chez les donneurs récemment infectés par le VHC pendant la période 1996-98 sont l'usage de drogue intraveineuse (19 %), l'endoscopie (19 %) et une intervention chirurgicale sans transfusion (17 %) [14]. Même si ces données sont difficilement extrapolables à la population générale, elles indiquent une évolution vers une chute de l'incidence. Elle peut s'expliquer par une politique d'exclusion des donneurs potentiellement infectés en constante amélioration et une diminution de l'incidence dans la population générale. Cette diminution est très probablement liée à une meilleure prise en compte des risques viraux de transmission parentérale depuis l'émergence dans les années 80 du VIH et la prise de conscience de l'hépatite C dans les années 90, entraînant une diminution du risque nosocomial. Toutes ces données laissent supposer que l'hépatite C est en voie d'extinction, sauf dans la population des toxicomanes. En effet, chez les usagers de drogue, le VHC continue à se propager. L'incidence dans ce type de population a été récemment estimée à 16/100 années-patients [55]. Un effort d'information et de dépistage devrait être fait en direction de cette population.

■ III. DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE

Différents tests permettent le diagnostic d'une infection par le VHC. Certains reposent sur la recherche d'anticorps témoignant d'un contact avec le virus, d'autres signalent la présence du virus en recherchant l'ARN du VHC ou un antigène de capsid du VHC (Ag VHC).

III.1- Les outils diagnostiques

III.1.1- Diagnostic indirect

Pour la recherche des anti-VHC, des peptides de synthèse et/ou des protéines recombinantes sont utilisés. Les uns de type ELISA recherchent une activité anti-VHC globale. Les autres de type immunoblot permettent une analyse plus fine. Il n'existe pas de test permettant le diagnostic d'un contact récent en recherchant des anti-VHC de classe IgM.

III.1.1.1- Test ELISA

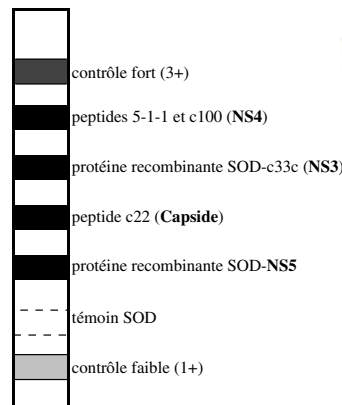
Les premières trousse commercialisées en 1990 ne détectaient que des anti-NS4. À partir de 1991, les tests de deuxième génération permettaient de détecter en plus les anti-capsides et les anti-NS3 ; enfin les tests de troisième génération, utilisés depuis 1993, ajoutent pour la plupart la recherche des anti-NS5.

III.1.1.2.- Test de validation

Ces tests de type immunoblot mettent en évidence de façon distincte les différents anticorps dirigés contre le VHC, chaque protéine étant déposée séparément sur un support de nitrocellulose [13]. Pour tous ces tests, y sont fixées des protéines correspondant aux régions capsid, NS3 et NS4 du génome. Sur certains se retrouve également une protéine NS5 ou un peptide de synthèse de l'enveloppe, E2/NS1 (figure 4). Dans un premier temps, ces tests ont été présentés comme des tests de « confirmation ». Puis, avec la commercialisation des tests recherchant l'ARN du VHC par PCR, leur utilité a été remise en cause. La conférence internationale de consensus de 1999 préconise son utilisation en situation de dépistage systématique dans les populations dites « à faible risque » où 25 % des signaux correspondent à des réactions non spécifiques [57]. En pratique, certains auteurs préfèrent aller d'emblée à la PCR [67] alors que d'autres préconisent l'utilisation de ce type de tests non seulement pour valider l'existence (ou non) d'une séropositivité anti-VHC mais aussi pour la préciser [53, 84, 23].

III.1.1.3- Sérotypage

Cette technique de type ELISA repose sur la reconnaissance d'anticorps dirigés contre des épitopes spécifiques de génotypes. Ce test utilise des peptides de synthèse de la région NS4. Au sein de cette région, deux régions antigéniques majeures ont été mises en évidence, elles présentent des séquences différentes selon les génotypes du virus et les anticorps produits varient selon le génotype. Cependant, le sérotypage se limite au typage du VHC, le sous-typage n'étant pas possible en raison d'une identité importante de la séquence des épitopes de la protéine NS4 entre les différents sous-types d'un même géno-



Le recombinant immunoblot assay ou RIBA de 3ème génération

(Chiron Riba HCV 3.0 SIA®) d'Ortho-Clinical Diagnostics. Cinq protéines du VHC sont déposées sur la bandelette de nitrocellulose. Deux bandes témoins de réaction (forte 3+ et faible 1+) permettent de quantifier l'intensité des réactions vis-à-vis des protéines virales.

Principes d'interprétation :

- 1- Le dépôt SOD permet d'éliminer certaines réactions non spécifiques dirigées contre les protéines recombinantes fusionnées à la superoxyde dismutase.
- 2- Une sérologie est considérée anti-VHC RIBA-positif si des anticorps sont dirigés contre au moins deux spécificités antigéniques (dont au moins une réactivité anti-capside ou anti-NS3), d'intensité au moins égale à 1+.
- 3- Une positivité comportant au moins des fortes réactivités (3+ ou 4+) anti-capside et anti-NS3 est associée dans plus de 90 % des cas à une présence du VHC. Dans le cas contraire, la probabilité d'une virémie positive n'est que de 10 %.
- 4- Deux types de réactivité isolée sont à distinguer :
 - anti-NS4 ou anti-NS5 isolé : à considérer anti-VHC négatif.
 - anti-NS3 ou anti-capside isolé : trois possibilités sont à envisager en fonction du contexte clinique et de l'interrogatoire. 1) une guérison 2) un début de séroconversion 3) plus rarement une infection chronique. La dernière hypothèse n'est à envisager qu'en cas de forte réactivité (4+).

Figure 4 : Exemple d'immunoblot VHC

type. D'autre part, les sujets ne développant pas d'anticorps anti-NS4 ne peuvent pas être sérotypés [51].

III.1.2- Diagnostic direct

III.1.2.1- Recherche de l'ARN du VHC

Pour le diagnostic direct, la mise en évidence de la présence du VHC repose actuellement sur la détection de l'ARN du VHC. La quantité d'ARN du VHC présente dans le sérum oblige à l'utilisation de techniques d'amplification génique. Certaines correspondent à une amplification de la cible (génome), d'autres du signal [40, 65]. La PCR qui aboutit à un grand nombre de copies du génome est la plus utilisée pour la détection sérique qualitative de l'ARN du VHC. La recherche quantitative de l'ARN du VHC (charge virale) peut être réalisée par PCR compétitive ou par une technique d'amplification du signal (DNA branché). L'expression des résultats, selon la technique utilisée, en copies/ml ou équivalents génomes/ml compliquait jusqu'alors l'analyse des résultats. L'utilisation d'un étalon international commun aux différentes techniques lève cette ambiguïté en exprimant les résultats en Unité Internationale par ml [66]. Bien que les techniques quantitatives aient accru leur sensibilité, elles restent moins sensibles avec une quantification à partir de 500 UI/ml pour un seuil à 200 UI/ml contre 50 UI/ml pour la PCR qualitative.

III.1.2.2- Génotypage

Le principe des tests commercialisés repose sur l'utilisation de sondes spécifiques des génotypes et des sous-types. Deux régions du génome VHC ont été utilisées : la région 5' non codante et la région de la capsid. La technique LIPA (Line Probe Assay) se déroule en deux étapes successives. Après une amplification de la région 5' non codante à l'aide d'amorces universelles, les produits amplifiés sont ensuite hybridés à des sondes spécifiques des différents types et sous-types fixées sur des bandelettes de nitrocellulose. L'hybridation est ensuite révélée par une méthode enzymatique [41]. Avec la technique DEIA (DNA Enzyme Immuno Assay), les produits amplifiés de la région de la capsid sont déposés dans des puits d'une microplaque ELISA, préalablement sensibilisés avec des sondes spécifiques. L'hybridation est également détectée par une méthode enzymatique.

L'utilisation des trousse de génotypage a un intérêt d'ordre épidémiologique. Ainsi, le génotype 1b prédomine chez les sujets ayant été contaminés par transfusion ou n'ayant pas de facteur de risque connu, alors que les génotypes 1a et 3a sont majoritairement retrouvés chez les toxicomanes [24, 68]. La détermination du génotype a aussi un intérêt dans le bilan pré-thérapeutique. En revanche, ces tests ne sont pas suffisamment précis pour affirmer une identité de souche, notamment dans l'étude d'une chaîne de transmission si le même génotype est mis en cause ; le séquençage reste alors la méthode de référence [49].

III.1.2.3- Ag VHC

Récemment une technique permettant la détection d'un antigène de capsid du VHC (Ag VHC) a été mise au point. Ce test permet de réduire la fenêtre sérologique précédant la séroconversion anti-VHC, avec une efficacité voisine de celle obtenue avec la PCR [71]. La place de ce test pour le dépistage, le diagnostic et le suivi thérapeutique sont à l'étude [90].

III.2- Cinétique des marqueurs sériques

III.2.1- Début d'infection

Les anticorps anti-VHC apparaissent en moyenne 10 semaines après le contag. Avant leur apparition, période dite « sérologiquement muette », l'ARN du VHC est détectable par PCR. Les premiers anticorps décelables sont les anticorps dirigés contre la capsid ou la protéine NS3 ; puis, au cours du temps, le profil sérologique s'enrichit avec l'accentuation de la positivité des réactivités déjà présentes et l'apparition d'autres réactivités [34]. Une fois la séroconversion accomplie, le profil anticorps se stabilise avec, le plus souvent, trois ou quatre réactivités anti-VHC (figure 5). Plus rarement le profil anticorps se stabilise à deux anticorps voire un seul, il s'agit, dans ce cas d'anti-capsid ou d'anti-NS3 [50].

III.2.2- Évolution vers la guérison

La disparition sérique de l'ARN du VHC par PCR, spontanément ou après traitement, signe la guérison. En revanche, la séropositivité anti-VHC persiste, témoignant du contact passé avec le VHC. Toutefois, l'arrêt de la stimulation antigénique dû à l'extinction de la réplication du VHC entraîne à terme une décroissance des anti-VHC. La rapidité de cette

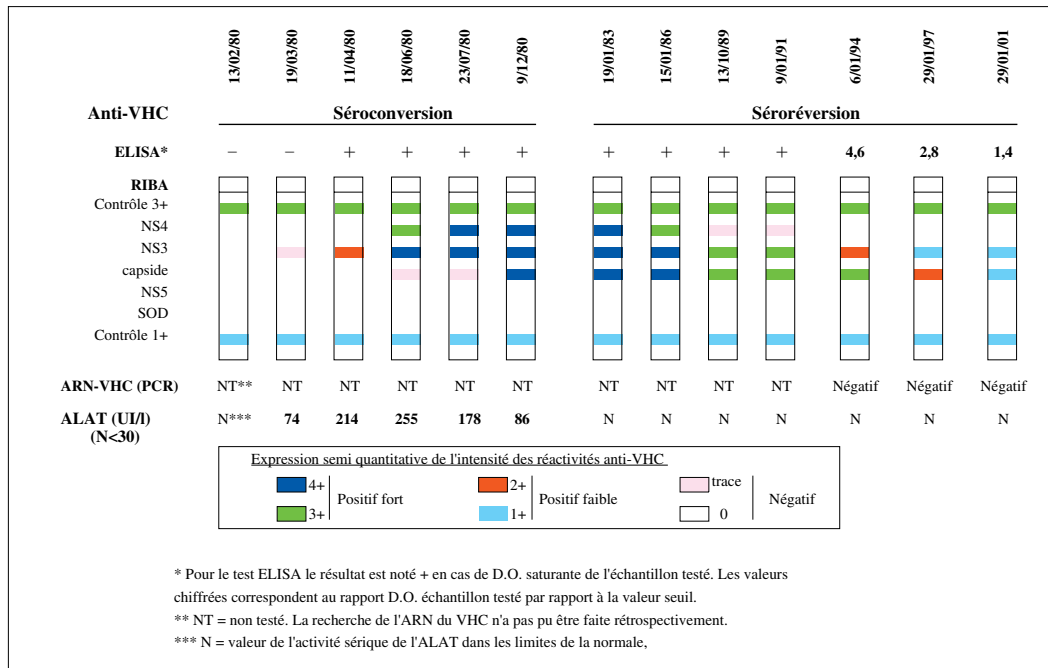


Figure 5 : Séroconversion suivie d'une séroréversion chez un malade hémodialysé

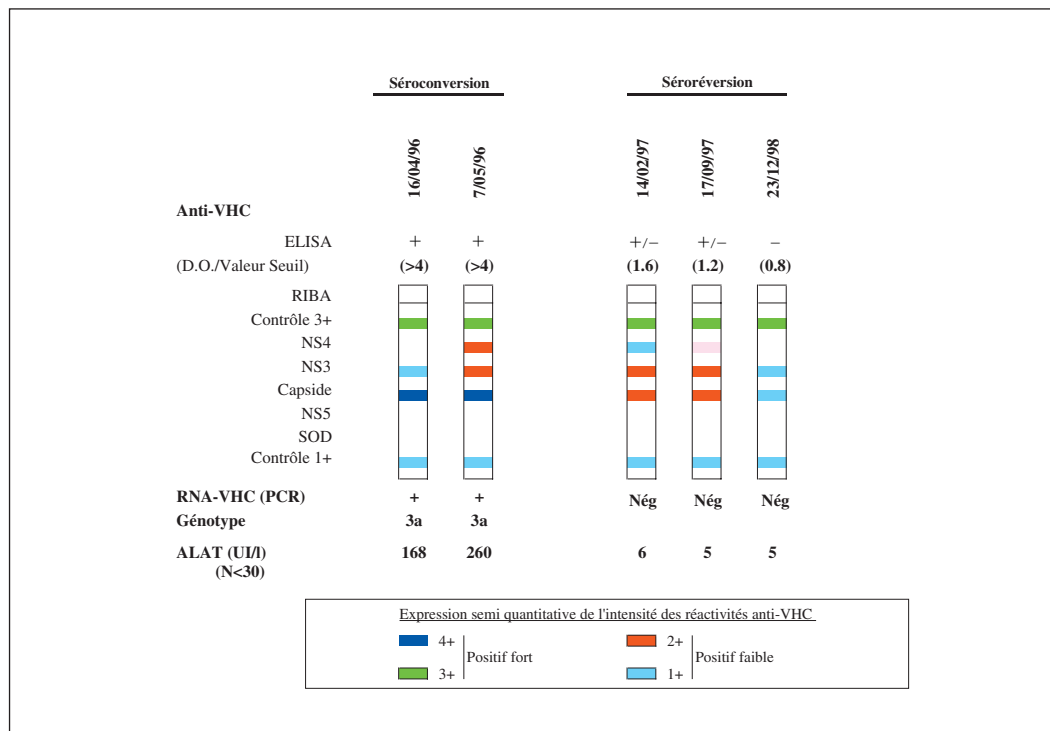


Figure 6 : Infection par le VHC évoluant vers la guérison : séroréversion rapide

diminution est variable. Elle est fonction de la durée de la réplication du VHC, mais aussi de la réponse immunitaire individuelle. Il en découle le concept de « séroréversion » décrit par différents auteurs [31, 48]. Les tests immunoblot sont plus performants que les tests ELISA pour la mise en évidence de la séroréversion anti-VHC qui succède à la guérison (figures 5, 6).

III.2.3.- Évolution vers la chronicité

L'évolution vers la chronicité est caractérisée par la persistance de l'ARN du VHC. Chez les sujets immunocompétents, les anticorps anti-VHC persistent. En revanche, chez les sujets immunodéficients co-infectés par le VIH et le VHC, il est classiquement admis qu'une séroréversion peut ne pas être corrélée à une guérison. Même si cette éventualité est rare et qu'elle a été rapportée avec des tests de première ou de deuxième génération [8], elle oblige, chez les sujets infectés par le VIH pour lesquels une infection par le VHC est suspectée, à rechercher l'ARN du VHC par PCR en cas de séronégativité anti-VHC.

III.2.4- Réinfection

Le VHC se distingue respectivement du VIH et du VHB pour ce qui est de l'élimination complète du virus et des possibilités de réactivation. En revanche, la guérison d'une infection par le VHC n'est pas synonyme de protection, un même individu pouvant faire successivement plusieurs infections par le VHC. Il s'agit alors de ré-infection et non de réactivation (figure 7) [79, 69].

III.3- Démarche diagnostique

Les différents outils du diagnostic sérologique permettent de se situer dans l'histoire naturelle de l'infection en répondant aux questions suivantes :

- Existe-t-il une trace sérologique d'un contact avec le VHC ?
- Existe-t-il une trace sérologique de la présence du VHC ?
- Si le virus est détecté, s'agit-il d'une infection récente ou chronique ?
- Si le virus n'est pas détecté, peut-on affirmer la guérison ?

Les profils sérologiques répondant à chacune de ces interrogations sont présentés dans le tableau I.

Tableau I : Démarche du diagnostic sérologique d'une infection par le VHC

Profil sérologique			ALAT	Exposition au risque	Démarche diagnostique	Conclusion
Anti-VHC	ARN du VHC	Interprétation				
-	+	Infection actuelle	Elevée	Récente	Surveillance de la séroconversion anti-VHC et de la persistance ou non de l'ARN du VHC	Hépatite aiguë
+	+	Infection actuelle	Elevée	Récente	Faible positivité du profil immunoblot. Surveillance de l'évolution de l'immunoblot ¹ et de la persistance ou non de l'ARN du VHC	Hépatite aiguë
+	+	Infection actuelle	Elevée ou Normale	Ancienne	Forte positivité du profil immunoblot ² Contrôle de l'ARN du VHC ³	Infection chronique
+	-	Contact avec le VHC	Normale	Ancienne	En cas de forte positivité de l'immunoblot ² , => contrôle de l'ARN du VHC. Surveillance de l'évolution de l'immunoblot vers une séroréversion des anti-VHC	Guérison

1. L'accentuation de la positivité des réactivités déjà présentes et/ou apparition d'autres réactivités sur des prélèvements successifs permet de poser le diagnostic de contact récent avec le VHC.

2. Voir «principe d'interprétation» figure 4. Une forte positivité du test immunoblot associe au moins une forte positivité (3 ou 4 +) anti-capside et anti-NS3.

3. Le diagnostic d'infection chronique ne doit pas reposer sur une seule détermination de l'ARN du VHC.

III.3.1- Place des différents outils diagnostiques

En situation de dépistage ou de diagnostic, la nomenclature des actes biologiques recommande, en première intention, la recherche des anti-VHC avec un test ELISA ; sachant, qu'en principe, la présence d'anticorps ne distingue pas les sujets actuellement infectés de ceux qui ont évolué vers la guérison. La nomenclature des actes biologiques précise qu'un

résultat positif (ou douteux) doit être contrôlé sur un second prélèvement en utilisant une technique différente de la première : une autre technique ELISA ou un test immunoblot peut actuellement être utilisé. Ce contrôle a pour but de vérifier la répétabilité du résultat afin d'écartier (comme pour la sérologie Ag HBs et anti-VIH) la possibilité d'une erreur d'identification ou d'une contamination de l'échantillon de sérum testé. L'obligation d'utiliser un autre réactif pour ce contrôle permet aussi d'obtenir un complément d'information. Dans cet esprit, le test immunoblot est plus informatif que les tests ELISA. En effet, l'intérêt de ce type de test ne se limite pas à valider la présence d'anti-VHC ou à conclure à une fausse positivité du test ELISA. Il permet aussi, selon le profil de positivité, de suspecter une infection chronique, de soupçonner un début d'infection ou d'évoquer une infection ayant évolué vers la guérison [23, 56]. Son utilisation s'impose en situation de dépistage. Le dosage de l'activité sérique de l'ALAT donne lui aussi un complément d'information. La séropositivité anti-VHC est associée à une présence du virus dans 97 % des cas si l'activité de l'ALAT est élevée alors qu'elle ne l'est que dans 64 % des cas si l'activité de l'ALAT est normale [24]. Néanmoins, seule la détection de l'ARN du VHC par PCR permet d'affirmer l'existence d'une infection actuelle par le VHC. Une fois la sérologie de contrôle effectuée, cette recherche pourra être faite. En cas de positivité, l'indication d'un traitement pourra être discutée. Les autres tests virologiques (génotype, virémie quantitative) trouveront alors leur place dans le bilan pré-thérapeutique afin d'adapter les doses et la durée du traitement.

III.3.2- Diagnostic et surveillance d'une hépatite aiguë

Le diagnostic sérologique d'un début d'infection repose essentiellement sur la séroconversion anti-VHC. Celle-ci peut être mise en évidence par l'apparition d'une positivité du test ELISA sur deux prélèvements successifs. Toutefois, à la phase d'état d'une hépatite aiguë, les tests anti-VHC de troisième génération sont le plus souvent positifs, et un test anti-VHC ELISA-positif associé à un ARN du VHC PCR-positif ne permet pas de distinguer un début d'infection d'une infection chronique. En revanche, cette distinction est possible en utilisant un test immunoblot pour le contrôle de la sérologie anti-VHC. Une faible positivité du profil immunoblot, notamment dans un contexte d'hépatite aiguë, sera évocatrice d'un début d'infection. La surveillance de l'évolution de ce profil pourra permettre de poser le diagnostic si une accentuation de la positivité des réactivités déjà présentes et/ou une apparition d'autres réactivités sont observées sur des prélèvements successifs (figures 5, 6, 7).

Si une hépatite aiguë C est suspectée et que la sérologie anti-VHC ELISA est négative, une recherche de l'ARN du VHC par PCR doit être faite. Si celle-ci est positive, le diagnostic d'hépatite aiguë C est posé. Toutefois, ce diagnostic devra être confirmé par l'apparition des anti-VHC sur des prélèvements ultérieurs.

La surveillance biologique d'une infection aiguë permet de juger d'un éventuel passage à la chronicité. La disparition de l'ARN du VHC et le retour à la normale de l'activité sérique de l'ALAT sont en faveur de la guérison. En revanche, l'évolution vers la chronicité est très probable si l'ARN du VHC persiste au-delà de six mois.

III.3.3- Diagnostic et surveillance d'une hépatite chronique

Faisant suite à la découverte d'une sérologie anti-VHC positive, la détection de l'ARN du VHC est le marqueur clef pour poser le diagnostic d'une infection chronique. Toutefois, en situation de dépistage ou de diagnostic, le contrôle de la sérologie anti-VHC avec un test immunoblot donne un complément d'information utile pour mieux poser le diagnostic [23, 56]. Ainsi, en cas

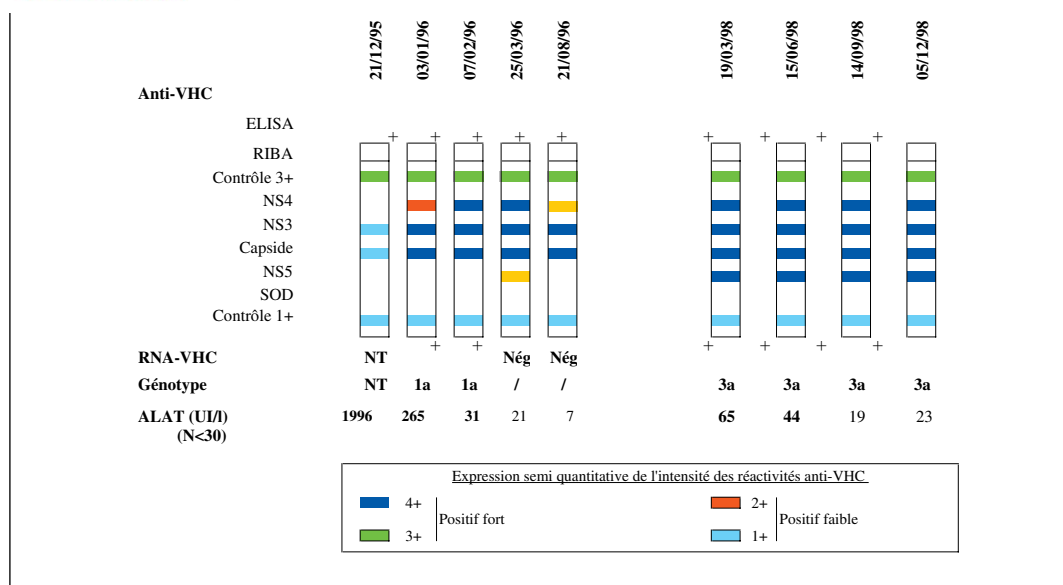


Figure 7 : Évolution des marqueurs sériques à la suite de deux infections successives par le VHC

de positivité de l'ARN du VHC, un test immunoblot associant au moins une forte positivité anti-capside et anti-NS3 est en faveur d'une infection chronique alors qu'une faible positivité (voire une négativité du test immunoblot) évoque plutôt un début d'infection. Par ailleurs, le diagnostic d'infection chronique ne doit pas reposer sur une seule détermination de l'ARN du VHC. Il est souhaitable de vérifier ce résultat sur un second prélèvement surtout si le test immunoblot (négatif ou faiblement positif) n'est pas en faveur d'une infection chronique. Cette recherche peut être faite 6 mois après la première détermination. Une fois posé le diagnostic d'infection chronique, il est inutile de renouveler la sérologie anti-VHC. Le suivi virologique de l'infection chronique dépendra de la mise en œuvre ou non d'un traitement.

Pour les sujets non-traités, que le traitement soit refusé, contre-indiqué ou jugé non nécessaire du fait de lésions hépatiques minimales ou absentes, aucun schéma consensuel de surveillance n'est préconisé. Toutefois, bien que la négativation spontanée de l'ARN du VHC soit très rare en cas d'infection chronique, il pourrait être proposé annuellement à ces patients une surveillance de l'activité sérique de l'ALAT et une recherche de l'ARN du VHC.

Pour les patients éligibles à un traitement, une charge virale et surtout un génotypage du virus doivent être réalisés lors du bilan pré-thérapeutique. Les résultats de ces deux paramètres détermineront le schéma thérapeutique. La surveillance du traitement repose sur la recherche qualitative de l'ARN du VHC et sur un dosage d'ALAT, les critères biologiques de bonne réponse au traitement étant la normalisation de l'ALAT et la disparition sérique de l'ARN du VHC [37].

III.3.4- Diagnostic d'une infection chez le nouveau-né

Avant d'entreprendre une démarche diagnostique chez un nouveau-né, plusieurs éléments doivent être pris en considération :

- Les anticorps maternels transmis à l'enfant peuvent persister jusqu'à l'âge de 12 à 18 mois [12, 39].
- La transmission mère-enfant du VHC est rare.
- En cas de transmission, l'infection peut spontanément guérir dans les 2 premières années de vie [63].
- L'évolution spontanée à long terme de l'infection chronique reste encore mal connue, mais les données actuelles montrent, qu'à moyen terme, l'hépatite chronique C secondaire à une transmission périnatale est relativement bénigne. Il semble que, chez l'enfant indemne de toute pathologie associée, l'évolution vers la cirrhose soit exceptionnelle à l'âge pédiatrique et aucun cas de carcinome hépatocellulaire n'a pour l'instant été décrit chez l'enfant.

En conséquence, même si la recherche de l'ARN du VHC permet un diagnostic précoce, il est recommandé chez un enfant né de mère infectée par le VHC, de n'effectuer qu'à 12 ou 18 mois la sérologie anti-VHC. En cas de positivité des anti-VHC, la recherche de l'ARN du VHC par une méthode qualitative doit être effectuée.

■ IV. SYMPTOMATOLOGIE

IV.1- Atteintes hépatiques

IV.1.1- Hépatite aiguë

L'infection aiguë passe le plus souvent inaperçue. Après une incubation de sept semaines en moyenne, les signes cliniques sont le plus souvent pauvres (nausées, fièvre, frissons, malaises, fatigue, hépatalgie). Une douleur de l'hypocondre droit et l'asthénie sont les signes les plus fréquemment retrouvés. Le nombre de patients présentant une infection aiguë avec ictère est estimé à 10 % [4]. Une élévation variable de l'activité sérique de l'ALAT (allant de 2 à 10 fois la normale) est observée quelques semaines après le début de l'infection. La phase symptomatique, quand elle existe (20 % des patients), peut durer de deux à douze semaines. La survenue d'hépatites fulminantes se limiterait aux co-infections B et C [30].

IV.1.2- Infection chronique et hépatopathies

L'hépatite C est caractérisée par un taux élevé de passage à la chronicité, 50 à 80 % selon les estimations [75, 21]. L'infection chronique est définie par la présence durable dans le sang de l'ARN du VHC associée à une activité sérique de l'ALAT élevée, fluctuante voire normale. Les facteurs favorisant l'évolution vers la chronicité de l'infection ne sont pas totalement élucidés. L'échappement au système immunitaire par mutations des protéines d'enveloppe serait à l'origine de la persistance du VHC dans l'organisme. Le risque d'évolution vers la chronicité est d'autant plus faible que la symptomatologie est marquée en début d'infection [35]. La vigueur de la réponse immunitaire à médiation cellulaire semble jouer un rôle déterminant dans l'évolutivité de l'infection [59, 64].

L'hépatite chronique C est en règle générale asymptomatique. La symptomatologie se limite le plus souvent à une asthénie dont le manque de spécificité permet rarement d'orienter le diagnostic. La sévérité de l'évolution de la maladie est fonction de l'âge au moment de la contamination, du sexe, d'une consommation chronique d'alcool et du statut immunitaire [17, 46, 70]. La notion de « porteur sain » reste controversée. Cette situation, moins fréquente que pour l'hépatite B, représenterait environ 5 % des infections chroniques [32]. Dans la moitié des cas, l'infection conduit à une hépatite chronique minime. Dans l'autre moitié, la maladie hépatique est plus active, l'évolution vers la cirrhose survenant dans environ 10 à 20 % des cas (figure 8). Un modèle a été réalisé afin de reproduire l'histoire naturelle de la maladie en France. Ainsi pour un homme contaminé à l'âge de 30 ans, le temps moyen estimé de l'installation d'une cirrhose est de 32 ans et de 39 ans pour l'apparition d'un hépatocarcinome. Le décès pouvant survenir après 41 ans d'évolution [21].

Les signes cliniques d'une décompensation de cirrhose, plus marqués que ceux de l'hépatite chronique ou de la cirrhose compensée, peuvent constituer un mode de découverte d'une infection par le VHC. Ces signes correspondent aux complications de l'hypertension portale (ascite, hémorragie par rupture de varices œsophagiennes) et/ou de l'insuffisance hépatocellulaire (ictère, ascite, astérisis, sensibilité aux infections). Le carcinome hépatocellulaire fait suite à la cirrhose, son incidence annuelle est d'environ 4 % une fois la cirrhose constituée. Ce risque est majoré par la consommation chronique d'alcool. Toutefois, certains résultats suggèrent un rôle direct du VHC dans la survenue du carcinome hépatocellulaire [95].

La morbidité et la mortalité liées à une infection chronique par le VHC sont essentiellement les conséquences de la cirrhose suite à une décompensation ou à une évolution vers le carcinome hépatocellulaire. Ce type de complications peut survenir 20 ou 30 ans après

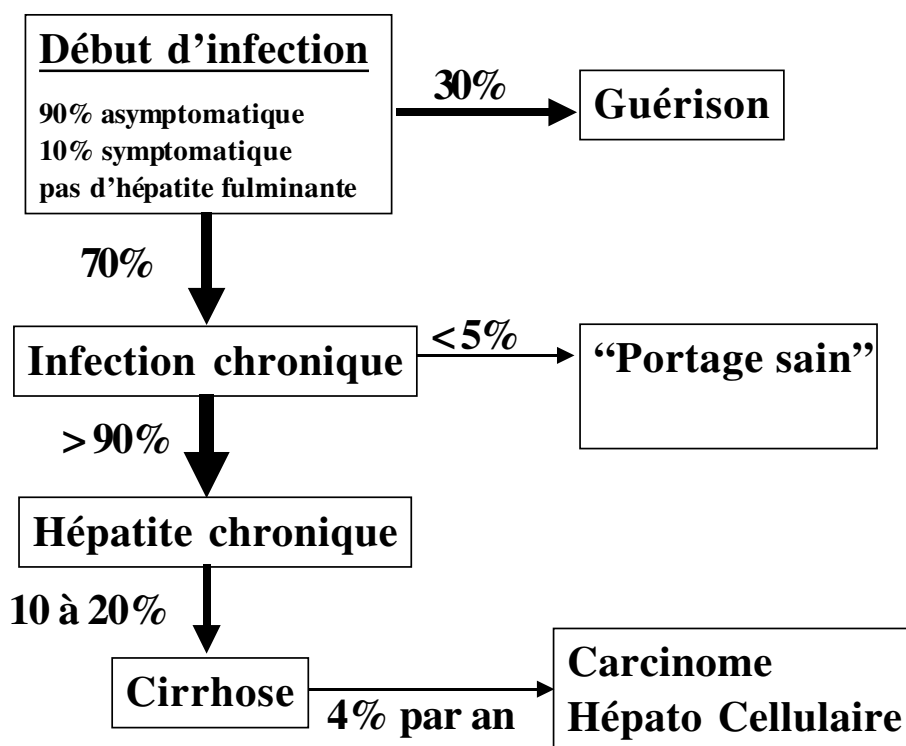


Figure 8 : Histoire naturelle de l'infection par le VHC

le début de l'infection. Le dépistage de l'hépatite C a pour objectif de prévenir ce risque d'évolution vers la cirrhose en proposant un traitement antiviral aux sujets infectés.

IV.1.3- Diagnostic de l'atteinte hépatique : la ponction biopsie hépatique

Les différents outils du diagnostic sérologique renseignent sur le statut virologique mais ne permettent pas de conclure sur la gravité de l'atteinte hépatique. Seule la ponction biopsie hépatique (PBH) permet de l'évaluer [2]. Elle permet d'apprécier l'activité nécrotico-inflammatoire de l'hépatopathie et la fibrose, et de poser rationnellement l'indication thérapeutique. Il n'y a pas de lien établi entre la sévérité de l'hépatopathie et la quantification de l'ARN du VHC ou le génotype.

Le VHC est responsable d'hépatite chronique dont les caractéristiques histologiques sont semblables aux lésions retrouvées dans les hépatites B chroniques. Cependant, elle comporte un infiltrat inflammatoire portal ou péri-portal moins important et des lésions lobulaires plus nettes. Les lésions en faveur d'une atteinte par le VHC sont au nombre de trois : la stéatose hépatocytaire, la présence dans les espaces portes de nodules lymphoïdes avec centre clair et des lésions inflammatoires des canaux biliaires inter-lobulaires [36]. Pour apprécier l'atteinte histologique du foie, on a d'abord utilisé le score de *Knodell* (de 0 à 22) qui prend en compte quatre éléments : la nécrose péri-portale, la nécrose intra-lobulaire, l'inflammation portale et enfin la fibrose. On lui préfère maintenant la grille METAVIR (tableau XI de l'article de F. Denis). Le score obtenu est plus linéaire que le score *Knodell*, il dissocie le score d'activité (A de 0 à 3) et le score de fibrose (F de 0 à 4), enfin la reproductibilité inter-observateurs est plus satisfaisante [3].

L'existence d'une cirrhose est très rare chez les patients à transaminases normales (0,3 %). Elle est en fait imputable à une consommation excessive d'alcool. Parmi ces patients à transaminases normales, le tiers n'a pas de lésions histologiques, la moitié des lésions minimales, le reste ayant une hépatite chronique modérément active [76].

Avant de débiter un traitement antiviral, la PBH est indispensable. Elle permet d'évaluer la gravité de l'atteinte hépatique, mais aussi de dépister ou confirmer une pathologie associée (surcharge en fer, consommation alcoolique) qui pourrait aggraver la maladie et réduire les possibilités de réussite du traitement.

IV.2- Manifestations extra-hépatiques

Les infections à VHC peuvent être associées à un certain nombre de manifestations auto-immunes et d'anomalies biologiques extra-hépatiques [100]. La détection d'auto-anticorps (anti-noyaux, anti-muscles lisses, anti-LKM) pourrait (à tort) orienter vers une hépatite auto-immune. Ainsi des purpuras idiopathiques et certaines thyroïdites auto-immunes (comme la thyroïdite d'Hashimoto) peuvent être imputables au VHC [54].

L'anomalie la plus fréquemment associée à une infection par le VHC est la cryoglobulinémie, qui a pu être identifiée chez 36 à 54 %, selon les auteurs, des sujets infectés par le VHC. Plusieurs études ont montré que 50 à 80 % des cas de cryoglobulinémies mixtes étaient associées à la présence d'anticorps anti-VHC.

■ V. TRAITEMENT

Les indications réglementaires ne concernent que le traitement des infections chroniques. Pour l'hépatite aiguë, la dernière conférence de consensus considère que la décision doit être prise au cas par cas et que, idéalement, les sujets traités devraient l'être dans le cadre d'un essai clinique [57].

L'objectif du traitement est d'éradiquer le virus et de faire disparaître les lésions hépatiques. Avec la bithérapie, le taux moyen de réponses au traitement est de 40 %. En fait, les chances de succès varient de 20 à 80 % selon les critères de bonnes ou de mauvaises réponses. Une femme de moins de 40 ans, infectée par un génotype 2 ou 3 avec une charge virale basse et des lésions hépatiques minimales, sans fibrose, aura les meilleures chances de réponse au traitement [77].

V.1- Bilan pré-thérapeutique

La décision thérapeutique est fonction de l'âge du patient, de l'existence de pathologies associées, du risque d'évolution vers la cirrhose, des chances de succès du traitement et des contre-indications éventuelles.

Les sujets ayant une activité sérique de l'ALAT normale ont en règle générale des lésions hépatiques minimales et une faible réponse au traitement. En conséquence, en dehors de protocole thérapeutique, le traitement ni la PBH ne sont conseillés [57]. En revanche, une surveillance tous les 6 mois de l'ALAT doit être faite.

Un terrain dépressif constitue un critère d'abstention thérapeutique compte tenu du risque de dépression (pouvant aller jusqu'au suicide) induit par l'interféron. De la même manière, l'apparition d'un état dépressif en cours de traitement peut conduire à l'arrêt de celui-ci. En revanche, il n'y a pas de contre-indication à traiter un ancien toxicomane sevré ou équilibré par un traitement substitutif.

L'indication d'un traitement antiviral repose essentiellement sur l'existence de lésions histologiques. La décision sera prise en fonction du score METAVIR [77, 3]. Le traitement est indiqué à partir d'un score de fibrose F2 ou d'une fibrose portale F1 associée à un score d'activité de A2 ou A3. La cirrhose compensée peut être aussi traitée. En revanche, l'indication d'un traitement antiviral ne sera pas retenue et la transplantation envisagée en cas de cirrhose décompensée dans les circonstances suivantes : ascite réfractaire, infection spontanée du liquide d'ascite, rupture de varices œsophagiennes non contrôlée, présence de petits carcinomes hépatocellulaires isolés (moins de 3 nodules de moins de 3 cm de diamètre).

L'indication d'un traitement peut être retenue sur la seule existence de manifestations extra-hépatiques cliniquement invalidantes comme par exemple une vascularite ou une cryoglobulinémie. L'efficacité du traitement antiviral apportera la preuve du rôle pathogénique du VHC.

Le bilan virologique comporte la détermination du génotype et une charge virale, sachant qu'en cas d'infection par un génotype 1 avec une charge virale supérieure à 800 000 UI/ml les chances de succès du traitement sont plus faibles, sans pour autant le contre-indiquer.

Le traitement oblige à la mise en place d'une contraception qui sera poursuivie 4 mois après l'arrêt du traitement chez la femme et 7 mois pour l'homme.

Chez les sujets co-infectés par le VIH et VHC, le risque de progression rapide de l'hépatite chronique C conduit à proposer un traitement de l'hépatite C si, par ailleurs, l'infection par le VIH est stabilisée [11]. La restauration immunitaire due à l'efficacité des antiprotéases pourrait paradoxalement aggraver de façon transitoire les lésions hépatiques [74].

V.2- Schémas thérapeutiques

Avant même que le VHC ne soit identifié, l'efficacité de l'interféron pour le traitement des hépatites chroniques non-A non-B avait été démontrée [43]. En monothérapie, une réponse soutenue est obtenue dans environ 20 % des cas. Actuellement, en première intention, l'interféron est associé à un analogue nucléosidique, la ribavirine. En monothérapie, sauf contre-indication de la ribavirine, l'interféron n'a plus d'indication.

Le traitement est modulé en fonction des facteurs prédictifs cliniques et biologiques de réponse au traitement. Ainsi, en cas d'infections avec les génotypes 2 et 3 ou d'infections avec un autre génotype associées à une charge virale faible (moins de 800 000 UI/ml), le traitement est de 6 mois alors qu'il est de 12 mois pour les infections avec les génotypes 1, 4, 5, 6 avec une charge virale supérieure à 800 000 UI/ml.

V.3- Surveillance

La surveillance de la réponse virologique au traitement repose sur la recherche de l'ARN du VHC par PCR qualitative, car plus sensible que les techniques quantitatives. En monothérapie, elle est évaluée au troisième mois. En cas de positivité, le traitement est interrompu. Pour la bithérapie, la réponse est évaluée au sixième mois. Une PCR sera aussi pratiquée 6 et 12 mois après l'arrêt du traitement pour surveiller la possibilité de rechute. Au plan virologique, les patients traités sont classés en trois catégories :

- répondeur : patient restant ARN du VHC négatif 6 et 12 mois après l'arrêt du traitement ;
- rechuteur : patient ARN du VHC négatif en fin de traitement mais redevenant positif 6 ou 12 mois après ;
- non répondeur : l'ARN du VHC restant positif en cours de traitement.

Ce critère virologique a le mérite d'être un critère objectif de réponse au traitement, mais il n'en couvre pas tous les aspects. La persistance de l'ARN du VHC classe un sujet dans la catégorie des non répondeurs, alors qu'il peut exister une réponse en terme de normalisation de l'ALAT ou d'amélioration des lésions histologiques. Par ailleurs, l'impact du traitement sur des aspects plus subjectifs comme la qualité de la vie mériterait d'être étudié.

En cours de traitement, une surveillance des effets secondaires doit être faite. Pour l'interféron, les plus fréquents sont : le syndrome grippal, l'alopécie, la dysthyroïdie, la dépression, la thrombopénie et la leucopénie [28]. Pour la ribavirine, le plus notable est l'anémie hémolytique qui peut entraîner des accidents cardiaques chez les sujets déjà atteints de maladie coronarienne [77].

BIBLIOGRAPHIE

- 1- ALTER M.J. Hepatitis C virus infection in the United States. *J. Hepatol.*, 1999 ; 31 (suppl 1) : 88-91.
- 2- BARLET M.P., ZAFRANI E.S. Diagnostic et surveillance histologiques de l'hépatite C. *Rev. Prat.*, 2000 ; 50 : 1078-1082.
- 3- BEDOSSA P., POYNARD T., for the METAVIR cooperative study group. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. *Hepatology*, 1996 ; 24 : 289-293.
- 4- BOOTH J.C.L. Chronic hepatitis C: the virus, its discovery and the natural history of the disease. *J. Viral Hep.*, 1998 ; 5 : 213-222.
- 5- BRESTERS D., MAUSER-BUNSCHOTEN E.P., REESINK H.W., ROOSENDAAL G., VAN DER POEL C.L., CHALUMEAU RAF M. et al. Sexual transmission of hepatitis C virus. *Lancet*, 1996 ; 342 : 210-211.
- 6- BRONOWICKI J.P., VENARD V., BOTTÉ C., MONHOVEN N., GASTIN I., CHONÉ L., HUDZIAK H., RHIN B., DELANOË C., LEFAOU A., BIGARD M.A., GAUCHER P. Patient-to-patient transmission of hepatitis C virus during colonoscopy. *N. Eng. J. Med.*, 1997 ; 337 : 237-440.
- 7- BUKH J., PURCELL R.H., MILLER R.H. Sequence analysis of the 5' non coding region of hepatitis C virus. *Proc. Natl Acad. Sc. USA*, 1992 ; 89 : 4942-4946.
- 8- CHAMOT E., HIRSCHL B., WINTSCH J., ROBERT C.F., GABRIEL V., DEGLON J.J. et al. Loss of antibodies against hepatitis C virus in HIV-seropositive intravenous drug users. *AIDS*, 1990 ; 4 : 1275-1277.
- 9- CHOEN J. The scientific challenge of hepatitis C. *Science*, 1999 ; 285 : 26-30.
- 10- CHOO Q.L., KUO G., WEINER A.J., OVERBY L.R., BRADLEY D.W., HOUGHTON M. Isolation of a cDNA clone derived from blood-borne non-A, non-B hepatitis genome. *Science*, 1989 ; 244: 359-362.
- 11- COLLIER J., HEATHCOTE J. Hepatitis C viral infection in the immunosuppressed patient. *Hepatology*, 1998 ; 27 : 2-6.
- 12- CONTE D., FRAQUELLI M., PRATI D., COLUCCI A., MINOLA E. Prevalence and clinical course of chronic hepatitis C virus (HCV) infection and rate of HCV vertical transmission in a cohort of 15,250 pregnant women. *Hepatology*, 2000 ; 31 : 751-755.
- 13- COUROUCÉ A.M., BARIN F., ELGHOZZI M.H., LUNEL F., NOEL L., NORTH M.L., SMILOVICI W. Comparaison de la sensibilité de cinq tests de confirmation des anticorps anti-VHC. *Spectra Biologie*, 1997 ; 16 : 39-45.
- 14- COUROUCE A.M., PILLONEL J., SAURA C. Dépistage des marqueurs des infections transmissibles par transfusion sur les dons collectés en France de 1996 à 1998. *Trans. Clin. Biol.*, 2000 ; 7 : 153-170.
- 15- COUZIGOU P. Sexe, famille et virus de l'hépatite C. Association prouvée, causalité non établie. *Gastroenterol. Clin. Biol.*, 1995 ; 19 : 147-149.
- 16- CROFT N., HOPPER J.L., MILNER R., BOWDER D.S., BRESCHKIN A.M., LOCARNINI S.A. Hepatitis C virus infection among a cohort of Victorian injecting drug users. *Med. J. Aust.*, 1993 ; 159 : 237-241.

- 17- DATZ C., CRAMP M., HAAS T., DIETZE O., NITSCHKO H., FROESNER G. et al. The natural course of hepatitis C virus infection 18 years after an epidemic outbreak of non-A, non-B hepatitis in plasmapheresis center. *Gut*, 1999 ; 44 : 563-567.
- 18- DAVID X.R., BLANC P., PAGEAUX G.P., DESPREZ D., DIAZ D., LEMAIRE J.M., TOGNARELLI B., LARREY D., MICHEL H. Transmission familiale du virus de l'hépatite C. *Gastroenterol. Clin. Biol.*, 1995 ; 19 : 147-149.
- 19- DESENCLOS J.C., DUBOIS F., COUTURIER E., PILLONEL J., ROUDOT-THORAVAL F., GUIGNARD E., BRUNET J.B., DRUCKER J. Estimation du nombre de sujets infectés par le VHC en France, 1994-1995. *Bull. Épidemiol. Hebdo.*, 1996 ; 5 : 22-23.
- 20- DESENCLOS J.C., PILLONEL J., DELAROCQUE-ASTAGNEAU E., DE VALK H. Épidémiologie de l'hépatite C et stratégies de surveillance. *Méd. Mal. Infect.*, 1999 ; 29 : 325-331.
- 21- DEUFFIC S., BUFFAT L., POYNARD T., VALLERON A.J. Modeling the hepatitis C virus epidemic in France. *Hepatology.*, 1999 ; 29 : 1596-1601.
- 22- DOHANUE J., MUNOZ A., NESS P., BROWN D., YAWN D., Mc ALLISTER H., REITZ B., NELSON K. The declining risk of post-transfusion hepatitis C virus infection. *N. Eng. J. Med.*, 1992 ; 327 : 369-374.
- 23- DUBOIS F., BARIN F., GOUDEAU A. Sérologie anti-VHC pour le dépistage, le diagnostic et la surveillance de l'hépatite C : place de l'immunoblot. *Ann. Biol. Clin.*, 1998 ; 56 : 417-426.
- 24- DUBOIS F., DESENCLOS J.C., MARIOTTE N., GOUDEAU A., and the collaborative study group. Hepatitis C in a french population-based survey, 1994: seroprevalence, frequency of viremia, genotype distribution, and risk factor. *Hepatology*, 1997 ; 25 : 1490-1496.
- 25- ESTEBAN R. Epidemiology of hepatitis C virus infection. *J. Hepatol.*, 1993 ; 17 (suppl 3) : S67-S71.
- 26- FAILLA C., TOMEI L., DE FRANCESCO R. Both NS3 and NS4A are required for proteolytic processing of hepatitis C virus non structural proteins. *J. Virol.*, 1994 ; 68 : 3753-3760.
- 27- FARCI P., SHIMODA A., COIANA A., DIAZ G., PEDDIS G., MELDOPER J.C. et al. The outcome of acute hepatitis C predicted by evolution of viral quasispecies. *Science*, 2000 ; 288 : 339-344.
- 28- FATTOWITH G., GIUSTINA G., FAVARATO S., RUOL A. A survey of adverse events in 11241 patients with chronic viral hepatitis treated with alpha interferon. *J. Hepatol.*, 1996 ; 24 : 38-47.
- 29- FEINSTONE S.M., KAPIKIAN A.Z., PURCELL R.H., ALTER H.J., HOLLAND P.V. Transfusion associated hepatitis not due to viral hepatitis A or B. *N. Engl. J. Med.*, 1975 ; 292 : 767-770.
- 30- FERAY C., GIGOU M., SAMUEL D., REYNES G., BERNUAU J., REYNES M., BISMUTH H., BRECHOT C. Hepatitis C virus RNA and hepatitis B virus DNA in serum and liver of patients with fulminant hepatitis. *Gastroenterol.*, 1993 ; 104 : 549-555.

- 31- FEUCHT H.H., ZOLLNER B., SCHROTER M., POLYWKA S., BUGGISCH P., NOLTE H., LAUFS R. High rate of chronicity in HCV infection determined by antibody confirmatory assay and PCR in 4110 patients during long-term follow-up. *J. Clin. Viro.*, 1999 ;13 : 43-51.
- 32- GHOLSON C.F., MORGAN K., CATINIS G., FAVROT D., TAYLOR B., GONZALEZ E. et al. Chronic hepatitis C with normal aminotransferase levels : a clinical histologic study. *Am. J. Gastroenterol.*, 1997 ; 92 : 1788-1792.
- 33- GIBB D.M., GOODALL R.L., DUNN D.T., HEALY M., NEAVE P., CAFFERKEY M., BUTLER K. Mother-to-child transmission of hepatitis C virus : evidence for preventable peripartum transmission. *Lancet*, 2000 ; 356 : 904-907.
- 34- GIUBERTI T., FERRARRI C., MARCHELLI S., DEGLI ANTONI A.M., SCIANCHI C., PIZZAFERI P., FIACCADORI F. Long-term follow-up of anti-hepatitis C virus antibodies in patients with acute nonA nonB hepatitis and different outcome of liver disease. *Liver*, 1992 ; 12 : 94-99.
- 35- GIUBERTI T., MARIN M.G., FERRARI C., MARCHELLI S., SCHIANCHI C., ANTONI A.M.D. et al. Hepatitis C virus viremia following clinical resolution of acute hepatitis C. *J. Hepatol.*, 1994 ; 20 : 666-671.
- 36- GOODMAN Z.D., ISHAK K.G. Histopathology of hepatitis C virus infection. *Semin. Liver. Dis.*, 1995 ; 15 : 70-81.
- 37- GOUDEAU A., DUBOIS F. Diagnostic et surveillance biologique des infections par le virus de l'hépatite C. *Rev. Prat.*, 2000 ; 50 : 1-7.
- 38- GRAKOUÏ A., WYCHOWSKI C., LIN C., FEINSTONE S.M., RICE C.M. Expression and identification of hepatitis C virus polyprotein cleavage product. *J. Virol.*, 1993 ; 67 : 1385-1395.
- 39- GRANGÉ J.D., ANTOINE J.M., AMIOT X. Virus de l'hépatite C et grossesse. *Gastroenterol. Clin. Biol.*, 1999 ; 23 : 1033-1039.
- 40- HALFON P., HALIMI G., GEROLAMI V., SAYADA C., CARTOUZOU G. Hépatite C : apport de la quantification virale. *Feuillets de Biologie*, 1998 ; 39 : 29-37.
- 41- HALFON P., OUZAN D., KHIRI H., FERYN J.M. Serotyping and genotyping of hepatitis C virus (HCV) strains in chronic HCV infection. *J. Med. Virol.*, 1997 ; 52 : 391-395.
- 42- HIJIKATA M., MIZUSHIMA H., AKAGI T., LORI S., KAKIUCHI N., KATO N., TANAKA T., KIMURA K., SHIMOTOHONO K. Two distinct proteinase activities required for the processing of a putative non structural precursor protein of hepatitis C virus. *J. Virol.*, 1993 ; 67 : 4665-4675.
- 43- HOOFNAGLE J.H., MULLEN K.D., JONES D.B., RUSTGI V., DI BISCEGLIE A., PETERS M. et al. Treatment of chronic nonA, nonB hepatitis with recombinant human alpha interferon. *N. Engl. J. Me.*, 1986 ; 315 : 1575-1578.
- 44- IMBERT E. L'épidémie de l'hépatite C se poursuit chez les toxicomanes : étude des mécanismes de transmission et nouvelles stratégies de prévention à mettre en œuvre. *Méd. Mal. Infect.*, 1999 ; 29 : 348-349.

- 45- KATO N., OOTSUYAMA Y., SEKIYA H., OHKOSHI S., NAKAZAWA T., HIJIKATA M., SHIMOTOHONO K. Genetic drift in hypervariable region 1 of the viral genome in persistent hepatitis C virus infection. *J. Virol.*, 1994 ; 68 : 4776-4784.
- 46- KENNY-WALSH E. for the Irish Hepatology Research Group. Clinical outcomes after hepatitis C infection from contaminated anti-D immune globulin. *N. Engl. J. Me.*, 1999 ; 340 : 1228-1233.
- 47- KOLYKHALOV A.A., FEINSTONE S.M., RICE C.M. Identification of a highly conserved sequence element at the 3' terminus of hepatitis C virus genome RNA. *J. Virol.*, 1996 ; 70 : 3363-3371.
- 48- LANOTTE P., DUBOIS F., LE POGAM S., GUÉROIS C., FIMBEL B., BACQ Y., GRUEL Y., GOUDEAU A., BARIN F. The kinetics of antibodies against hepatitis C virus may predict viral clearance in exposed hemophiliacs. *J. Infect. Dis.*, 1998 ; 178 : 556-559.
- 49- LE POGAM S., LE CHAPOIS D., CHRISTEN R., DUBOIS F., BARIN F., GOUDEAU A. Hepatitis C in a hemodialysis unit : molecular evidence for nosocomial transmission. *J. Clin. Microbiol.*, 1998 ; 36 : 3040-3043.
- 50- LEMAIRE J.M., COUROUCE A.M., DEFER C., BOUCHARDEAU F., COSTE J., AGULLES O., CANTALOUBE J.F., BARLET V., BARIN F. for the viral hepatitis study group of the french society of blood transfusion. HCV RNA in blood donors with isolated reactivities by third-generation RIBA. *Transfusion*, 2000 ; 40 : 867-70.
- 51- LERUEZ-VILLE M., NGUYEN Q.T., COHEN P., COCCO S., NOUYOU M., FERRIERE F., DENY P. Large-scale analysis of hepatitis C virus serological typing : assay effectiveness and limits. *J. Med. Virol.*, 1998 ; 55 : 18-23.
- 52- LOHMANN V., KORNER F., HERIAN U., BARTENSCHLAGER R. Biochemical properties of hepatitis C virus NS5B RNA-dependent RNA polymerase and identification of amino acid sequence motifs essential for enzymatic activity. *J. Virol.*, 1997 ; 71 : 8416-8428.
- 53- LOK A.S., GUNARATNAM N.T. Diagnosis of hepatitis C. *Hepatology*, 1997 ; 26 : 48S-56S.
- 54- LOUSTAUD-RATTI V., LUNEL F. Manifestations extra-hépatiques des infections par le virus de l'hépatite C. *Rev. Prat.*, 2000 ; 50 : 1089-1093.
- 55- LUCIDARME D., ILEF D., HARBONNIER J, JACOB C., DECOSTER A., DELAMARE C., CYRAN C., VAN HOENACKER A.F., FRÉMAUX D., JOSSE P., EMMA-NUELLI J., FILOCHE B. Etude prospective multicentrique de l'incidence et des facteurs de risque de l'infection par le virus de l'hépatite C dans un échantillon de toxicomanes du nord-est de la France. Méthodologie, premiers résultats. Journées scientifiques de l'InVS ; 23-24 novembre 2000.
- 56- MANIEZ-MONTREUIL M., DUBOIS F. Interprétation de la sérologie du virus de l'hépatite C : immunoblot et amplification génomique. *Transfus. Clin. Biol.*, 2000 ; 7 (suppl 1) : 25-30.
- 57- MARCELLIN P. Conférence internationale de consensus sur l'hépatite C. *Gazette de la Transfusion*, 1999 ; 156 : 21-28.

- 58- MATSUMOTO M., HWANG S.B., JENG K.S., ZHU N., LAI M.M. Homotypic interaction and multimerisation of hepatitis C virus core protein. *Virology*, 1996 ; 218 : 8416-8428.
- 59- MISSALE G., BERTONI R., LAMONACA V., VALLI A., MASSARI M., MORI C. et al. Different clinical behaviors of acute hepatitis C virus infection are associated with different vigor of the anti-viral cell-mediated immune response. *J. Clin. Invest.*, 1996 ; 98 : 706-14.
- 60- MOLDWAY J., DENY P., POL S., BRECHOT C., LAMAS E. Detection of hepatitis C virus RNA in peripheral blood mononuclear cells of infected patients by in situ hybridization. *Blood* ; 83 : 269-273.
- 61- NAKAJIMA N., HIJIKATA M., YOSHIKURA H., SHIMIZU Y.K. Characterization of long-term cultures of hepatitis C virus. *J. Virol.*, 1996 ; 70 : 3325-3329.
- 62- NAOUMOV V.N. Hepatitis C virus infection in Eastern Europe. *J. Hepatol.*, 1999 ; 31 (suppl 1) : 84-87.
- 63- PADULA D., RODELLA A., SPANDRIO M., ROSSINI A., CARIANI E. Spontaneous recovery from perinatal infection due to hepatitis C virus. *Clin. Infect. Dis.*, 1999 ; 28 : 141-142.
- 64- PAPE G.R., GERLACH T.J., DIEPOLDER H.M., GRUNER N., JUNG M.C., SANTANTONIO T. Role of the specific T-cell response for clearance and control of hepatitis C virus. *J. Viral. Hepat.*, 1999 ; 6 : 36-40.
- 65- PAWLOTSKY J.M. Les outils virologiques dans le diagnostic et la prise en charge de l'hépatite C. *Médecine et Thérapeutique*, 1999 ; 5 : 515-521.
- 66- PAWLOTSKY J.M., BOUVIER-ALIAS M., HEZODE C., DARTHUY F., REMIRE J., DHUMEAUX D. Standardization of hepatitis C virus RNA quantification. *Hepatology*, 2000 ; 32 : 654-659.
- 67- PAWLOTSKY J.M., LONJON I., HEZODE C., RAYNARD B., DARTHUY F. et al. What strategy should be used for diagnosis of hepatitis C virus infection in clinical laboratories ? *Hepatology*, 1998 ; 27 : 1700-1702.
- 68- PAWLOTSKY J.M., TSAKIRIS L., ROUDOT-THORAVALE F., PELLET C., STUYVER L., DUVAL J., DHUMEAUX D. Relationship between hepatitis C virus genotypes and sources of infection in patients with chronic hepatitis C. *J. Infect. Dis.*, 1995 ; 171 : 1607-1610.
- 69- PAYEN J.L., IZOPEK J., BARANGE K., PUEL J., SELVES J., PASCAL J.P. Réinfection par le virus de l'hépatite C après une injection intraveineuse de drogue. *Gastroenterol. Clin. Biol.*, 1998 ; 22 : 469-477.
- 70- PESSIONE F., DEGOS F., MARCELLIN P., DUCHATELLE V., NJAPOUM C., MARTINOT-PEIGNOUX M. et al. Effect of alcohol consumption on serum hepatitis C virus RNA and histological lesions in chronic hepatitis C. *Hepatology*, 1998 ; 27 : 1717-1722.
- 71- PETERSON J., GREEN G., LIDA K., CALDWELL B., KERRISON P., BERNICH S. et al. Detection of hepatitis C core antigen in the antibody negative « window » phase of hepatitis C infection. *Vox Sang*, 2000 ; 78 : 80-85.

- 72- PILERI P., UEMATSU Y., CAMPAGNOLI S. S., GALLI G., FAGULI F., PETRACCA R., WEINER A.J., HOUGHTON M., ROSA D., GRANDI G., ABRIGNANI S. Binding of hepatitis C to CD81. *Science* ; 282 : 938-941.
- 73- PILLONEL J., LAPERCHE S., SAURA C., COUROUCE A.M. and transfusion transmissible agents working group (GATT). Trends in risk of transfusion-transmitted viral infections in France, 1992 to 2000. Soumis à publication dans *Transfusion*.
- 74- POL S., LAMORTHE B., THI N.T., THIERS V., CARNOT F., ZYLBERBERG H. et al. Retrospective analysis of the impact of HIV infection and alcohol use on chronic hepatitis C in a large cohorte of drug users. *J. Hepatol.*, 1998 ; 27 : 945-950.
- 75- POL S., ZYLBERBERG H. Formes cliniques et évolution de l'hépatite C. *Rev. Prat.*, 2000 ; 50 : 1083-1088.
- 76- POYNARD T., BEDOSSA P., OPOLLON P. for the OBSVIRC, METAVIR, CLINIVIR and DOSVIRC groups. Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. *Lancet*, 1997 ; 349 : 825-832.
- 77- POYNARD T., RATZIU V., BENHAMOU Y., REGIMBEAU C. Traitement et prévention de l'hépatite C. *Rev. Prat.*, 2000 ; 50 : 1100-1107.
- 78- PRINCE A.M., HUIMA-BYRON T., PARKER T.S., LEVINE D.M. Visualisation of hepatitis C virions and putative defective interfering particles isolated from low density lipoproteins. *Journal of Viral hepatitis*, 1996 ; 3 : 11-17.
- 79- PROUST B., DUBOIS F., BACQ Y., LE POGAM S., ROGEZ S., LEVILLAIN R., GOUDEAU A. Two successive hepatitis C virus infections in a intravenous drug user. *J. Clin. Microbiol.*, 2000 ; 38 : 3125-3127.
- 80- PURO V., PETROSILLO N., IPPOLITO G. Risk of hepatitis C seroconversion after occupational exposures in health care workers. *Am. J. Infect. Control.*, 1995 ; 23 : 273-277.
- 81- QUERENGHI F., ZOULIM F. Le virus de l'hépatite C. *Rev. Prat.*, 2000 ; 50 : 1060-1065.
- 82- Rapport du groupe d'experts réuni sous l'égide de l'AFSSAPS. Place du dépistage de l'Ag VHC dans la quantification biologique des don de sang, de cellules, d'organes et de tissus. Juillet 2000.
- 83- RICE C.M. Flaviviridae : the virus and their replication. In Fields BN, Knipe DM, Howley PM, *Fields Virology* 1996 third edition, (p. 931-959), Lippincott-Raven publishers, Philadelphia.
- 84- SCHRÖTER M., FEUCHT H.H., SCHAFFER P., ZOLLNER B., POLYWKA S., LAUFS R. Definition of false-positive reactions in screening for hepatitis C virus antibodies. *J. Clin. Microbiol.*, 1999 ; 37 : 233-234.
- 85- SERFATY L., MAVIER P., VALLA D. Quels sont les modes de transmission non transfusionnels du virus de l'hépatite C ? *Gastroenterol. Clin. Biol.*, 1995 ; 19 : 525-533.
- 86- SHIMIZU Y.K., FEINSTONE S.M., KOHARA M., PURCELL R.H., YOSHIKURA H. Hepatitis C virus : detection of intracellular virus particules by electron microscopy. *Hepatology*, 1996 ; 23 : 205-209.

- 87- SIMMONDS P., SMITH D.B., Mc OMISH F., YAP P.L., KOLBERG J., URDEA M.S., HOLMES E.C. Identification of genotypes of hepatitis C virus by sequence comparisons in the core, E1 and NS5 regions. *J. Gen. Virol.*, 1994 ; 75 : 1053-1061.
- 88- SIMMONDS P., ALBERTI A., ALTER H.J., BONINO F., BRADLEY D.W., BRECHOT C. and the Collaborative Study Group. A proposed system for the nomenclature of hepatitis C viral genotypes. *Hepatology*, 1994 ; 19 : 1321-1324.
- 89- SMITH D.B., PATHIRANA S., DAVIDSON F., LAWLOR E., POWER J., YAP P.L. et al. The origin of hepatitis C virus genotypes. *J. Gen. Virol.*, 1997 ; 78 : 321-328.
- 90- TANAKA E., OHUE C., AOYAGI K., YAMAGUCHI K., YAGI S., KIYOSAWA K. et al. Evaluation of a new enzyme immunoassay for hepatitis C virus (HCV) core antigen with clinical sensitivity approximating that of genomic amplification of HCV RNA. *Hepatology*, 2000 ; 32 : 383-393.
- 91- THOMAS S.L., NEWELL M.L., PECKHAM C.S., ADES A.E., HALL A.J. A review of hepatitis C virus (HCV) vertical transmission : risks of transmission to infants born to mothers with and without HCV viraemia or human immunodeficiency virus infection. *Int. J. Epidemiol.*, 1998 ; 27 : 108-117.
- 92- TIBBS C.J. Methods of transmission of hepatitis C. *Journal of viral hepatitis*, 1995 ; 2 : 113-119.
- 93- TRÉPO C., PRADAT P. Hepatitis C virus infection in Western Europe. *J. Hepatol.*, 1999 ; 31 (suppl 1) : 80-83.
- 94- TSUKIYAMA-KOHARA K., LIZUKA NEA. Internal ribosome entry site within hepatitis C virus RNA. *J. Virol.*, 1992 ; 66 : 1476-1483.
- 95- TSUKUMA H., HIYAMA T., TANAKA S., NAKAO M., YABUUCHI, KITAMURA T. et al. Risk factors for hepatocellular carcinoma among patients with chronic liver disease. *N. Engl. J. Me.*, 1993 ; 24 : 1797-1801.
- 96- VAN DER POEL C. Hepatitis C virus and blood transfusion: past and present risks. *J. Hepatol.*, 1999 ; 31 (suppl 1) : 101-106.
- 97- VAN DER POEL C.L., CUYPERS H.T., REESINK H.W. Hepatitis C virus six years on. *Lancet*, 1994 ; 344 : 1475-1479.
- 98- WEINER A., ERICKSON A.L., KANPOSON J. et al. Persistent hepatitis C virus infection in chimpanzee is associated with emergence of a cytotoxic T lymphocyte escape variant. *Proc. Natl Acad. Sc. USA*, 1995 ; 92 : 650-658.
- 99- WEJSAL R. Sexual transmission of hepatitis C virus. *J. Hepatol.*, 1999 ; 31 (suppl 1) : 92-95.
- 100- ZINEGO A.L., BRECHOT C. Extrahepatic manifestations of HCV infection : facts and controversies. *J. Hepatol.*, 1999 ; 31 : 369-376.

VIRUS DES « HÉPATITES » G ET VTT

F. DENIS

(Service de Bactériologie-Virologie-Hygiène, Faculté de Médecine, Limoges)

CAHIER DE **BIOFORMA**
Formation
version numérique

Après la découverte à l'aide de techniques immunologiques des virus des hépatites A (1973), B (1969), puis celle du virus de l'hépatite C (1989) grâce aux techniques de biologie moléculaire et enfin du virus de l'hépatite E (1990), reste un certain nombre de cas d'hépatites, environ 3 % selon Alter et Bradley [1] qui ne peuvent être reliées à aucun de ces cinq virus ; on a désigné ces hépatites sous le nom d'hépatite non A-E.

Toutes les approches sont utilisées pour mettre en évidence de nouveaux virus des hépatites en utilisant du matériel biologique de patients présentant des hépatites non A-E, en utilisant des inoculations à différentes espèces de singes, en tentant des cultures, en essayant de visualiser des virus au microscope électronique et surtout, forts du succès obtenu grâce à la biologie moléculaire avec la découverte de l'hépatite C, en utilisant des techniques de biologie moléculaire.

Plusieurs approches ont été tentées [2] : amplification génique en partant de séquences conservées au sein d'une famille virale, PCR soustractive appelée RDA (*representational difference analysis*), ou méthode utilisant une génothèque d'ADN complémentaire et des amplifications selon la technique SISPA (*sequence independant single primer amplification*).

Ces techniques remarquables, extrêmement sensibles, sont susceptibles de livrer le génome de nouveaux agents infectieux sans préjuger de leur pathogénicité.

Le virus des « hépatites » G et le virus « transmissible par transfusion » découverts respectivement en 1995 et 1997 sont à mettre au crédit des techniques de biologie moléculaire, mais si leur diffusion au sein des populations est considérable, leur pouvoir pathogène reste à démontrer. Mais restent-ils des virus orphelins ?

BIBLIOGRAPHIE

- 1- ALTER H.J., BRADLEY D.W. Non-A, non-B unrelated to the hepatitis C virus (Non ABC). *Semin. Liver Dis.*, 1995 ; 15 : 110-120.
- 2- DENIS F., BARIN F., LUNEL F. Surveillance des virus émergents vis-à-vis du risque transfusionnel. In « Transfusion sanguine : une approche sécuritaire ». J.J. Lefrère, P. Rouger Eds. John Libbey Eurotext Montrouge 2000, p. 85-108.

Le « nouveau » virus a une longue histoire puisque c'est en 1967 que Dienhardt et ses collaborateurs [9, 44] ont inoculé par voie intraveineuse à des singes le sérum d'un chirurgien (initiales GB) prélevé au troisième jour d'un épisode ictérique. Il s'agissait de singes du genre *Saguinus* (tamarins).

En utilisant une approche voisine de celle utilisée pour mettre en évidence le virus de l'hépatite C, avec fabrication d'une librairie d'ADN complémentaire de l'agent recherché, l'équipe de Mushahwar [16, 42, 59], travaillant avec les laboratoires Abbott et utilisant des amplifications selon la méthode SISPA (*sequence independant single primer amplification*), a mis en évidence à partir des tamarins, en 1995, deux virus séquencés appelés GBV-A et GBV-B ; puis en utilisant des amorces dégénérées, ils ont à partir du sérum d'un sujet de l'Afrique de l'Ouest mis en évidence en 1996 un troisième virus dit GBV-C [31]. Des études ultérieures ont montré que seul GBV-C était un virus humain et non un virus du tamarin.

Indépendamment, une autre équipe, celle de Kim, travaillant chez Genelabs Technologies, a isolé [19, 36, 37, 38] à partir du sérum d'un patient américain présentant une hépatite non-A non-B non-C, un ARN présumé viral, puis l'a transcrit en ADN complémentaires, a eu recours à une banque d'expression, puis a amplifié cet ADN complémentaire par la technique SISPA, enfin ce groupe a procédé à des clonages et obtenu en 1995 à partir de multiples clones un génome viral qu'il a appelé virus de l'hépatite G (VHG).

Les virus GBV-C et VHG ont tous deux une organisation génomique les rapprochant des *Flaviviridae* [1, 52] ; ils sont très proches l'un de l'autre et représentent en fait deux isolats d'un même virus.

I. CARACTÉRISTIQUES DU VIRUS

On considère actuellement que seul le VHG/GB type C est un virus humain [58, 59]. Les deux isolats distincts initiaux VHG et GBV-C des deux groupes de chercheurs ont en fait un taux d'homologie en acides aminés de plus de 95 %, ils ne seront envisagés ici que comme étant deux représentants d'un même virus.

I.1.- Structure

Il s'agit d'un virus sphérique de 40 à 60 nm de diamètre, enveloppé ou possédant une péri-capside composée de 2 à 3 protéines virales.

Des incertitudes persistent quant à sa structure ; notamment quant à l'existence d'une capsidie protéique soit absente chez certains isolats soit grandement amputée chez les autres [57, 67]. Des techniques de mutagénèse dirigée ont déterminé la position du site d'initiation de la traduction juste avant la séquence signal de la glycoprotéine d'enveloppe E1.

I.2.- Génome

Le génome est constitué d'un peu plus de 9 100 nucléotides correspondant à un code ouvert de lecture unique encodant une protéine d'environ 3 000 acides aminés.

Le virus comporte comme le VHC une organisation génomique comportant des gènes structuraux (S) à l'extrémité 5' codant, faute semble-t-il de core, seulement pour des protéines d'enveloppe E1 et E2 et des gènes non structuraux (NS) situés vers l'extrémité 3' occupant plus des deux tiers du génome et codant les protéines non structurales NS1, NS2, NS3, NS4, NS5 (A et B), protéines ayant des activités enzymatiques (NS2 : protéase, NS3 : protéase/hélicase, NS5B : répliqueuse). Le tout étant encadré de séquences non codantes aux deux extrémités (figure 1) [3].

Le génome code une polyprotéine clivée secondairement en différents sites [25,26,49] (NS3/NS4 ; NS4A/NS4B ; NS5A/NS5B) [4].

Le VHG présente une variabilité génomique bien moindre que le VHC, sans identification de région hypervariable dans la zone E1.

Le taux de mutation du VHG chez les sujets chroniquement infectés est faible (moins de 10^{-6} substitutions de base par site par an) [61].

La comparaison de divers isolats, séquences entières ou analyses de différentes régions notamment de la zone 5' non codante, a permis de proposer une classification en 3 génotypes majeurs [8].

Le type 1 est surtout rencontré en Afrique de l'Ouest et au Ghana ; le type 2 aux États-Unis et en Europe et le type 3 prévaut en Asie. Récemment, il a été montré qu'un nouveau type

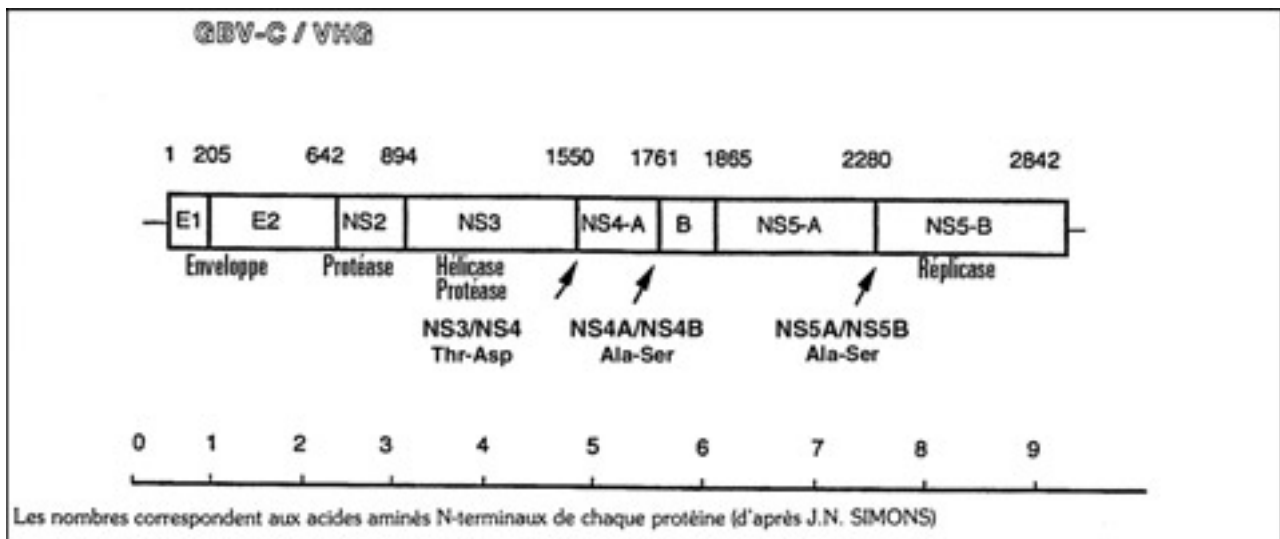


Figure 1 : Organisation génomique du VHG/GBV-C [3]

avait été découvert en Asie du Sud Est [43], mais on peut s'attendre à la reconnaissance de quelques autres types et surtout sous-types.

I.3- Étude phylogénétique

Un travail de RN Charrel et al [6, 7], étudiant l'évolution des virus GBV-A et GBV-C et de leurs hôtes primaires, ont émis l'hypothèse et apporté des arguments en faveur de l'existence d'un mécanisme de co-spéciation entre ces deux virus et leurs hôtes respectifs (s'appuyant sur le gène de l' ϵ -globine), sur une longue période de 35 millions d'années. L'infection des simiens et de l'espèce humaine serait donc extrêmement ancienne.

I.4- Classification

Le virus G est actuellement classé dans la famille des *Flaviviridae*. Il est assez éloigné du VHC avec lequel il a une homologie de séquence en acides aminés de 30 % seulement. On a pu proposer un arbre phylogénétique des *Flaviviridae* et le situer par rapport au VHC, au GBV-A et GBV-B et aux autres arbovirus (figure 2). Une comparaison de l'organisation génomique entre le virus G et ses proches parents est schématisée dans la figure 3 [6].

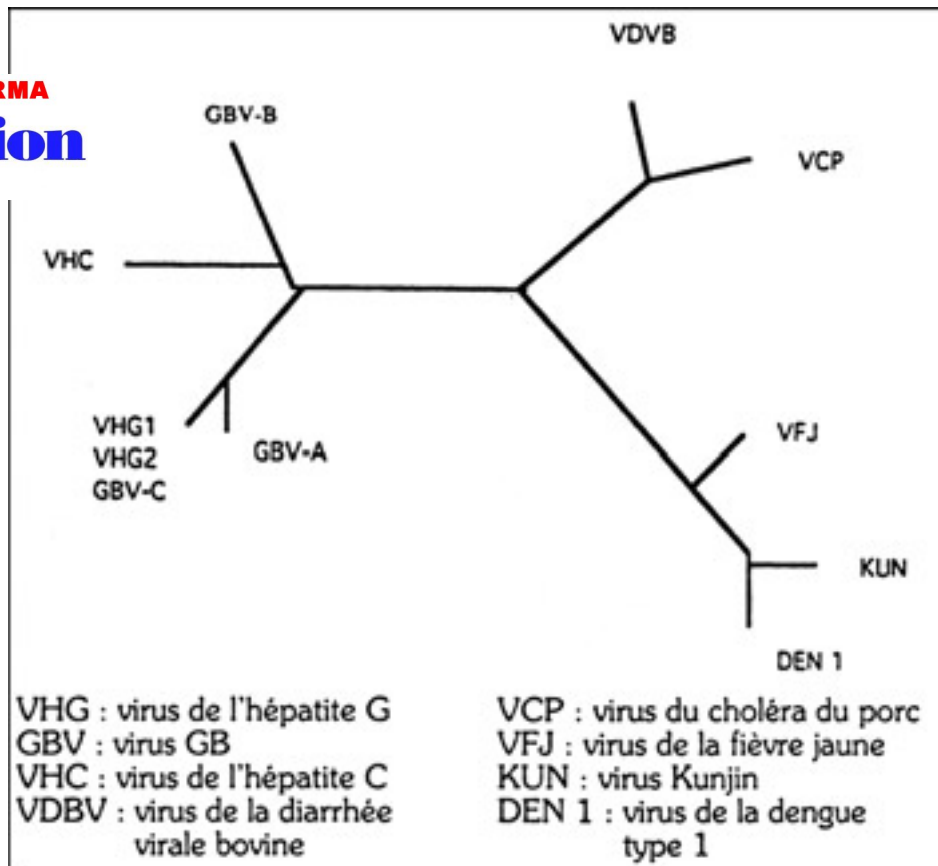


Figure 2 : Arbre phylogénétique des Flaviviridae [3]

I.5- Réplication

Chez les hôtes infectés, le virus a été détecté à des titres faibles dans de nombreux tissus tels que foie, moelle osseuse, rate et cellules mononucléées périphériques [30, 51]. En fait, l'identification du site principal de réplication du virus reste peu documenté.

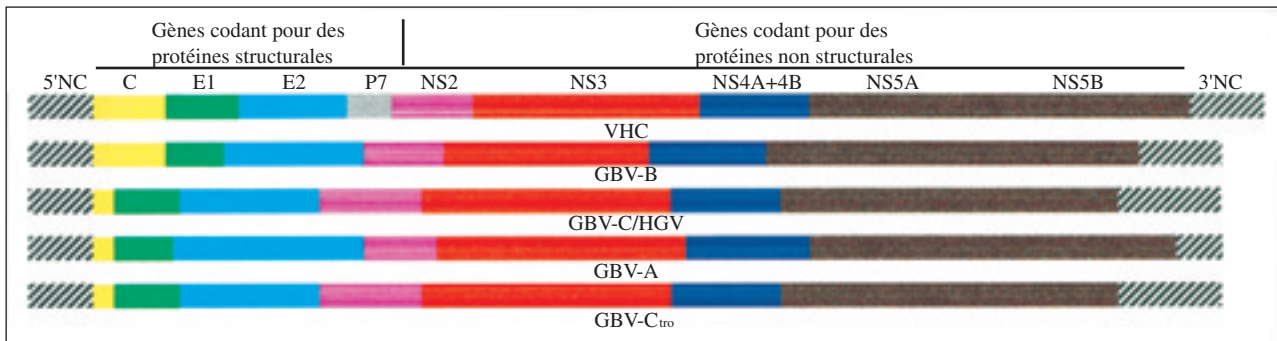


Figure 3 : Organisation comparée des génomes des virus de l'hépatite C, des GBV-A, GVC-B et VHG/GBV-C [6]

Le caractère hépatotrope du virus initialement suspecté est remis en cause devant le faible taux viral dans le foie et l'absence de détection d'ARN viral antigénomique dans cet organe [27, 29] ; mais aussi devant l'élévation modeste et inconstante des transaminases chez les sujets infectés par le VHG et du fait de l'absence de lien temporel entre leur élévation et les fluctuations de la virémie. Toutefois, si on retrouve des titres plasmatiques élevés [32], le site de production du virus et la clairance restent inconnus.

■ II. DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE

Comme pour tout virus, le diagnostic virologique comporte deux approches, le diagnostic direct visant à rechercher le virus ou ses constituants et le diagnostic indirect recherchant la réponse immune de l'organisme dont les anticorps.

II.1- Diagnostic direct

II.1.1- Culture

Des essais de culture sur système cellulaire ont été tentés. Si des réplifications limitées ont été obtenues sur cultures primaires de cellules mononucléées de sang périphérique stimulées et sur diverses lignées hépatiques ou lymphoïdes, cette approche par culture cellulaire ne saurait être envisagée en routine.

De nombreux primates sont sensibles au virus et permettent sa répllication tels les tamarins qui peuvent présenter des lésions hépatiques ou les chimpanzés qui développent des infections persistantes mais sans symptômes. Mais là encore, le recours à ces animaux ne se prête pas à un diagnostic de laboratoire.

II.1.2- Détection de la virémie par technique moléculaire

À partir du sérum, l'ARN est extrait puis retranscrit en ADN complémentaire. Puis l'amplification est effectuée en utilisant des amorces complémentaires de séquences situées dans les régions 5' non codantes (5' UTR), NS3 ou NS5. L'amplification de la région 5' non codante semble préférable aux autres.

Différentes techniques sont utilisées PCR, nested-PCR ou hemi-nested PCR. La détection se fait par électrophorèse au gel d'agarose, par chemiluminescence ou par DEIA (*DNA enzyme immuno assay*). Plusieurs kits sont commercialisés (Roche, Sorin...) [28].

Il apparaît souhaitable de standardiser les techniques [28]. Des méthodes de quantification du génome dans le sérum ont été décrites, mais l'intérêt en clinique de la quantification de la charge virale est à prouver.

L'identification du génotype à partir de la région 5' non codante ou d'autres zones génomiques n'a pas à ce jour d'intérêt autre qu'épidémiologique puisque l'on n'a pas démontré de lien entre un génotype donné et une pathologie quelconque. La virémie pourrait persister 1 à 2 ans.

Il n'existe actuellement pas de test de diagnostic sérologique permettant une détection d'antigène ou de marqueur spécifique permettant d'identifier des patients virémiques.

II.2- Diagnostic indirect : sérodiagnostic

De nombreux travaux ont cherché à identifier d'une part des épitopes suffisamment immunoréactifs et d'autre part des épitopes ne croisant pas avec les virus voisins que sont les GBV-A et GBV-B.

On a exploré les antigènes d'enveloppe et des antigènes non structuraux NS3, NS4 et NS5A.

II.2.1- Dépistage

Il est apparu que les résultats les plus satisfaisants ont été obtenus en recherchant par technique immunoenzymatique (ELISA) des anticorps dirigés contre l'antigène d'enveloppe E2 [50]. La source d'antigène est une protéine recombinante E2 exprimée en cellules ovariennes de Hamster (CHO) [14, 62, 63].

II.2.2- Test complémentaire

On a proposé pour limiter les réactions faussement positives de recourir à des tests complémentaires en utilisant des immunoblots avec des dépôts sous forme de bandes de protéines recombinantes structurales et non structurales [56], voire des techniques sandwich [39] ou même une radioimmunoprécipitation [50].

On est actuellement frustré de ne pas disposer de trousse fiable permettant la recherche d'anticorps anti-VHG dans la fraction IgM.

II.3- Interprétation des marqueurs viraux VHG

On constate d'après le tableau I dû à Tacke et al [62] que le génome et les anticorps anti E2 sont rarement retrouvés simultanément dans le sérum des patients. Ces marqueurs peuvent se chevaucher [3, 11, 13], mais ils sont le plus souvent exclusifs : l'apparition des anticorps anti E2 est annonciatrice de la fin de la virémie.

Chez les porteurs chroniques, les anti E2 peuvent être indétectables ou apparaître de façon intermittente [2, 32, 33]. Les connaissances concernant l'incapacité de l'organisme à produire des anticorps neutralisants ou l'aptitude du virus à échapper à l'immunosurveillance

Tableau I : Détection du génome du virus G et des anticorps dans le sérum en fonction des facteurs de risque (adapté de Tacke)

Groupe/Sujets	Anticorps anti E2	ARN du VHG	ARN+/anti E2+	ARN+ et/ou anti E2+
Antécédents				
Drogue IV	54 %	26 %	8 %	73 %
Transfusion	40 %	14 %	2 %	52 %
Hémophilie	13 %	34 %	13 %	53 %
Donneurs de sang sains	0,5 %	2,5 %	0,5 %	16 %

Tableau II : Interprétation des tests de diagnostic lors de l'infection par le virus G

Résultats		Interprétation
Anticorps anti E2	ARN du VHG	
-	+	Infection aiguë ou chronique
+	+	Infection chronique ou évolution favorable ou réactivation
+	-	Infection ancienne
-	-	Pas d'infection

sont à ce jour très limitées. On a observé que les infections chroniques sont particulièrement fréquentes chez les sujets immunodéprimés.

On peut interpréter schématiquement les résultats de ces deux marqueurs (tableau II) et dire qu'actuellement seules les techniques de biologie moléculaire permettent d'identifier une infection active et un risque de contagiosité.

■ III. ÉPIDÉMIOLOGIE

Les éléments disponibles pour établir des données fiables de prévalence sont la résultante de deux approches différentes, la recherche génomique d'une part et les enquêtes sérologiques d'autre part.

III.1- Population générale

Par recherche de génome, on a pu démontrer la diffusion mondiale du virus avec des prévalences comprises entre 1 % et 4 % dans différents pays.

Les tests sérologiques avec détection des anti E2 sont fréquemment positifs dans la population générale (3 à 20 %), ils montrent une diffusion virale encore plus élevée que ce que laissaient penser les enquêtes initiales.

La séropositivité est comprise entre 2 % et 8 % en Asie et Amérique du Nord, se situe entre 10 et 15 % en Europe et est voisine de 20 % en Afrique du Sud et en Amérique du Sud [14, 53].

III.2- Mode de transmission

- La transmission par le sang est indéniable [40, 55] puisque l'on retrouve une virémie chez 20 % des polytransfusés et chez 30 % des drogués par voie intraveineuse. Si on combine virémie et sérologie on retrouve dans l'étude de Tacke et al [62] au moins un marqueur G chez plus de 50 % des polytransfusés ou des hémophiles et chez plus de 70 % des drogués IV [60].

La fréquence élevée des marqueurs G chez les porteurs de virus VHB et VHC (10 à 20 % des sujets sont virémiques pour le VHG) suggère des modalités de transmission similaires.

- La transmission par contact est possible, mais les concentrations virales dans la salive ou le sperme sont faibles [48]. Si la transmission vénérienne existe [18] et si le virus est présent dans 50 % des spermes des sujets virémiques, elle serait apparemment faible [65]. Plusieurs arguments plaident en faveur d'une transmission « domestique ».

- La transmission mère-enfant est bien documentée et a fait récemment l'objet d'une revue d'ensemble [4] La prévalence de la virémie chez les femmes enceintes est de 2 à 4 % [17, 22, 41] ; le taux de transmission va selon les auteurs de 24 à 64 % et les virémies élevées favorisent cette transmission [35]. On connaît mal le moment de la transmission *in utero*, en période périnatale voire postnatale. On n'observe pas de manifestations cliniques chez l'enfant.

- La possibilité d'une transmission par vecteurs a été évoquée [54]. Le virus est largement répandu au niveau de la planète et on peut estimer qu'entre 500 millions et 1,2 milliard d'individus ont été exposés au virus.

■ IV. SYMPTOMATOLOGIE

Le virus G mérite-t-il le nom de virus de l'hépatite G ? La question mérite d'être posée.

Nous avons vu que les titres viraux dans le foie sont modérés. Par ailleurs, chez les donneurs de sang, la détection du génome n'est pas significativement différente selon qu'ils ont des transaminases élevées ou normales : 2,3 % vs 1,7 % dans une étude, 1,7 % vs 1,5 % dans une autre réalisée chez les donneurs de sang américains. Les recherches génomiques sont rarement positives dans les hépatites aiguës. Une polémique est née sur un éventuel rôle joué par le virus G dans les hépatites fulminantes. Les études portant sur des séries importantes et des patients de divers continents sont contradictoires.

Il semblerait que de nombreux patients aient été transfusés massivement avant d'être testés à la recherche d'une virémie G. Une méta-analyse [24] reprenant les données de 22 études publiées, retrouve une virémie de 20 % dans les hépatites fulminantes non B-non D et un chiffre supérieur à 20 % dans les hépatites fulminantes avérées B ou D. On a aussi invoqué le rôle joué par des mutants spécifiques du virus G dans ces hépatites fulminantes, mais là

aussi les données sont contradictoires [21]. Il semble que dans ce contexte, le virus G soit un « passant innocent ».

La participation du virus dans les hépatites chroniques est également discutée [2], la majorité des sujets infectés par le virus G ne présente pas de symptomatologie clinique ou biologique, seule une faible proportion présente une élévation transitoire du taux de transaminases (ALT). Les taux d'ALT sont généralement inférieurs à ceux retrouvés dans les hépatites C et les sujets infectés par le VHC ou co-infectés par VHC/G ne présentent pas de taux de transaminases significativement différents. Toutes les études concluent à une absence de lien entre virus G et pathologie hépatique ou même l'aggravation d'une pathologie hépatique sous jacente [5].

De même, pour Tagger et al [64], si le virus joue un rôle dans la genèse de l'hépatocarcinome, celui-ci serait modeste puisque la population pour laquelle le risque serait attribuable au virus G serait de 4 %, de 22 % pour le VHB, de 36 % pour le VHC et de 52 % pour l'alcool.

De même, la participation du virus dans des aplasies médullaires dans un contexte d'hépatite [34, 69], dans des cryoglobulinémies, des glomérulonéphrites, des syndromes de Sjögren, des scléroses en plaque, des hémopathies malignes (lymphomes, Hodgkin) [68] a été recherchée, mais de manière non concluante.

Au total, la contribution de ce virus dans une pathologie infectieuse quelconque hépatique ou autre semble nulle. Par prudence, il importe toutefois de ne pas exclure tout pouvoir pathogène lié à certains génotypes ou mutants, ce qui nécessite des investigations complémentaires.

■ V. PRÉVENTION ET TRAITEMENT

En théorie, les stratégies de prévention du virus G peuvent être calquées sur celles utilisées pour prévenir les infections par les virus B et C. Chez les donneurs de sang, le dépistage du génome et/ou des anticorps a donné lieu à un débat.

Mais, d'une part le pouvoir pathogène du virus G n'est pas prouvé, d'autre part une proportion importante des sujets sains (dont les donneurs de sang) possèdent dans leur sérum ARN viral et/ou anticorps (3 à 20 %).

De ce fait, un dépistage coûteux d'un agent infectieux « orphelin » qui exclurait un pourcentage non négligeable de donneurs de sang est-il justifié ? La question est posée.

La justification de traitements curatifs est également à démontrer. On a observé chez des patients présentant une infection par VHB ou VHC co-infectés par le virus G et traités par interféron (IFN), que le traitement induit fréquemment une chute de la virémie G [15, 23, 46, 66], mais que cette action est le plus souvent transitoire.

En cumulant les données de la littérature, il apparaît que le traitement à base d'interféron est inactif chez 35 % des patients, entraîne une rémission complète chez 15 % des sujets traités et une rémission suivie d'une rechute après arrêt du traitement chez les sujets restants (50 %).

La variabilité de la réponse à l'IFN pourrait être fonction de la dose utilisée, elle est liée au niveau de la virémie puisque les virémies inférieures à 100 000 copies/ml auraient une réponse plus soutenue que les virémies plus élevées.

La ribavirine ne semble pas influencer la virémie G.

Il faut préciser que chez les sujets co-infectés VHC et VHG la présence du virus G ne modifie pas la réponse du VHC au traitement, pas plus que la virémie VHC... [20].

En l'absence de pathogénicité prouvée du virus, des essais thérapeutiques visant uniquement le virus G ne sont pas justifiés.

■ CONCLUSION

Dans une synthèse sur les virus émergents, nous avons conclu que « les outils précieux que sont les techniques de biologie moléculaire ont sûrement un revers dû précisément à ce qui font leur qualité, à savoir leur sensibilité, car ils permettent certainement de détecter des génomes dont nous ne savons que faire ».

Le virus dit de l'hépatite G semble être une illustration de cette prédiction, très répandu chez les humains, il semble avoir co-évolué avec eux et être dénué de pouvoir pathogène [3, 10, 45, 47].

Mais la prudence impose des études complémentaires avant d'affirmer que ce virus n'est pas pathogène.

Des commentaires et questions formulés en 1995 [12] sur ce virus restent d'actualité, il était dit que le virus VHG/GBV-C :

- est un « beau » modèle virologique témoin d'un succès de la biologie moléculaire
- est peut-être le premier virus d'une longue série de virus innocents dont nous sommes porteurs ?
- n'a peut-être pas dit son dernier mot : pathologies rares ?
- pose la question de savoir, s'il n'est pas associé à une pathologie, s'il est scientifiquement valide et éthiquement juste de ne pas le rechercher et de le transmettre ?

BIBLIOGRAPHIE

- 1- ALTER HJ. To C or not to C : these are the questions. *Blood*, 1995, 85 : 1681-1695.
- 2- ALTER HJ., NAKATSUJI Y., MELPOLDER J., WAGES R., WESLEY J., SHIH WK., KIM JP. The incidence of transfusion-associated hepatitis G virus infection and its relation to liver disease. *N. Engl. J. Med.*, 1997, 336 : 747-754.
- 3- BARRIERE E., DENIS F. Virus de l'hépatite G : état actuel des connaissances. *Rev. Frcse Lab.* 1997, N° 297, 95-100.
- 4- BARRIERE E., LEFRERE JJ., DENIS F. GBV-C ou virus dit « de l'hépatite G ». In « Les virus transmissibles de la mère à l'enfant ». F. Denis Ed. *John Libbey Eurotext* Montrouge 1999, p. 136-143.
- 5- BRALET MP., ROUDOT-THORAVALL F., PAWLOTSKY JM. et al. Histopathologic impact of GB virus C infection on chronic hepatitis C. *Gastroenterology*, 1997, 112 : 188-192.
- 6- CHARREL R. Virus GB-A et GB-C (famille *Flaviridae*) : épidémiologie, caractérisation moléculaire, phylogénie et évolution. Thèse de Doctorat d'Université : Marseille 1999.
- 7- CHARREL RN., DE MICCO P., DE LAMBALLERIE X. Phylogenetic analysis of GB viruses A and C : evidence for co-speciation between viral isolates and their primate host. *J. Gen. Virol.* (soumis).
- 8- CONG M., FRIED MW., LAMBERT S., LOPAREVA EN., ZHAN M., PUJOL FH., THYAGARAJAN SP., BYUN KS., FIELDS HA., KUDYAKOV YE. Sequence heterogeneity within three different regions of the hepatitis G virus genome. *Virology*, 1999, 255 : 250-259.
- 9- DEINHARDT F., HOLMES AN., CAPPS RB. Et al. Studies on the transmission of human viral hepatitis to marmoset monkeys. Transmission of disease, serial passage and description of the liver lesions. *J. Exp. Med.*, 1967, 125 : 673-687.
- 10- DELAUGERRE C., SERVANT A., CECILE A., GUILLEVIN L., DENY P. Le virus GB-C (GBV-C/VHG) : à la recherche d'un pouvoir pathogène. *La lettre de l'infectiologue* 1998, 13 : 434-439.
- 11- DENIS F., LEFRERE JJ., NICOT T., RANGER-ROGEZ S. Nouveaux virus des hépatites parentérales : GBV-C/VHG. *Feuillets Biol.*, 1997, 38 : 25-30.
- 12- DENIS F., NICOT T. Découverte de nouveaux virus des hépatites les « GBV » : quelle est leur place et quel est leur pouvoir pathogène ? *Médecine/Sciences*, 1995, 11 : 883-885.
- 13- DENIS F., NICOT T., ROGEZ S., PAWLOTSKY JM. Virus de l'hépatite G, virus GB-C. *Encycl. Med. Chir.* (Elsevier-Paris), Hépatologie 7-015-B-58 , 1997, 4 p.
- 14- DILLE BJ., SUROWY TK., GUTIERREZ RA., COLEMAN PF., KNIGGE MF., CARRIK RJ., AACH RD., HOLLINGER FB., STEVENS CE., BARBOSA LH., NEMO GJ., MOSLEY JW., DAWSON GJ., MUSHAHWAR IK. An ELISA for detection of antibodies to the E2 protein of GB virus. *J. Infect. Dis.*, 1997, 175 : 458-461.

- 15- ENOMOTO N., SAKUMA I., ASAHINA Y., KUROSAKI M., MURAKAMI T., YAMAMOTO C., OGURA Y., IZUMI N., MARUMO F., SATO C. Mutations in the nonstructural protein 5A gene and response to interferon in patients with chronic hepatitis C virus 1b infection. *N. Engl. J. Med.*, 1996, 334 : 77-81.
- 16- ERKER JC., SIMONS JN., MUERHOFF S., LEARY TP., CHAUMERS ML., DESAI SM., MUSHAHWAR IK. Molecular cloning and characterization of a GB virus C isolate from a patient with non A-E hepatitis. *J. Virol.*, 1996, 77 : 2713-2720.
- 17- FEUCHT HH., ZOLINER B., POLYWKA S., LAUFS R. Vertical transmission of hepatitis G. *Lancet*, 1996, 347 : 615-616.
- 18- FEUCHT HH., ZOLLNER B., POLYWKA S., KNODLER B., SCHROTER M., NOLTE H., LAUFS R. Distribution of hepatitis G viremia and antibody response to recombinant proteins with special regard to risk factors in 709 patients. *Hepatology*, 1997, 26 : 491-494.
- 19- FRY KE., LINNEN L., ZHANG-KECK ZY. et al. Sequence analysis of a new RNA virus, hepatitis G virus (HGV), reveals a unique virus in the *Flaviviridae* family. *Hepatology*, 1995, 22 : 181 A-AASLD abstract 298.
- 20- HAYASHI J., UENO K., KAWAKAMI Y., KISHIBARA Y., ARIYAMA I., FURUYO N., SAWAYAMA Y., ETOH Y., KASHIWAGI S. Clinical course of chronic hepatitis C virus infection is not influenced by concurrent hepatitis G virus infection. *Dig. Dis. Sci.*, 1999, 44 : 618-623.
- 21- HERINGLAKE S., OSTERKAMP S., TRAUTWEIN C., TILLMAN HL., BOKER K., MUERHOFF S., MUSHAHWAR G., HUNSMANN G., MANN S. Association between fulminant hepatic failure and a strain of GBV virus C. *Lancet*, 1996, 348 : 1626-1629.
- 22- HINO K., MORIYA T., OHNO N. Mother-to-infant transmission occurs more frequently with GB virus than hepatitis C virus. *Arch. Virol.*, 1998, 143 : 65-72.
- 23- KARAYIANNIS P., HADZIYANNIS SJ., KIM J. et al. Hepatitis G virus infection : clinical characteristics and response to interferon. *J. Viral. Hepatitis*, 1997, 4 : 37-44.
- 24- KARAYIANNIS P., PICKERING J., ZAMPINO R., THOMAS HC. Natural history and molecular biology of hepatitis G virus/GB virus DNA. *Clin. Diagn. Virol.*, 1998, 15 : 103-111.
- 25- KATO T., MIZOKAMI M., NAKANO T., ORITO E., OHBA K., KONDO Y., TANAKA Y., UEDA R., MUKAIDEZ M., FUJITA K., YASUDA K., LINO S. Heterogeneity in E2 region of GBV-C/hepatitis G virus and hepatitis C virus. *J. Med. Virol.*, 1998, 55 : 109-117.
- 26- KIYOSAWA K., TANAKA E. GB virus C/hepatitis G virus. *Intervirology*, 1999, 42 : 185-195.
- 27- KOBAYASHI M., TANAKA E., NAKAYAMA J., FURUWATARI C., KATSUYAMA T., KAWASAKI S., KIYOSAWA K. Detection of GB virus C/hepatitis G virus genome in peripheral blood mononuclear cells and liver tissue. *J. Med. Virol.*, 1999, 57 : 114-121.

- 28- KUNKEL U., HOHNE M., BERG T., HOPF U., KEKULE AS., FROSNER G., PAULI G., SCHREIER E. Quality control study on the performance of GB virus C/hepatitis G virus PCR. *J Hepatol.*, 1998, 28 : 978-984.
- 29- LARAS A., ZACHARAKIS G., HADZIYANNIS SJ. Absence of negative strand of GBV-C/HGV RNA from the liver. *J. Hepatol.*, 1999, 30 : 383-388.
- 30- LASKUS T., RADKOWSKI M., WANG LF., VARGAS H., RAKELA J. Detection of hepatitis G virus replication sites by using highly strand-specific Tth-based reverse transcriptase PCR. *J. Virol.*, 1998, 72 : 3072-3075.
- 31- LEARY TP., MUERHOFF AS., SIMONS JN. et al. Sequence and genomic organization of GBV-C : a novel member of the *Flaviviridae* associated with human non A-E hepatitis. *J. Med. Virol.*, 1996, 48 : 60-67.
- 32- LEFRERE JJ., FEREC C., ROUDOT-THORAVAL F., LOISEAU P., CANTALOUBE JF., BIAGINI P., MARIOTTI M., LEGAC G., MERCIER B. GBV/hepatitis G virus (HGV) RNA load in immunodeficient individuals and in immunocompetent individuals. *J. Med. Virol.*, 1999, 59 : 32-37.
- 33- LEFRERE JJ., ROUDOT-THORAVAL F., MORAND-JOUBERT L., PETIT JC., LERABLE J., THAUVIN M., MARIOTTI M. Carriage of GBV virus C/hepatitis G virus RNA is associated with a slower immunologic, virologic, and clinical progression of human immunodeficiency virus disease in coinfecting persons. *J. Infect. Dis.*, 1999, 179 : 783-789.
- 34- LELLOUCH F., LE BIHAN G., PLANTIN I. et al. Aplasie médullaire et virus de l'hépatite G : quel lien ? *Presse Med.*, 1997, 26 : 1-2.
- 35- LIN HH., KAO JH., CHEN PJ., CHEN DS. Mechanism of vertical transmission of hepatitis viruses G. *J. Med. Virol.*, 1996, 347 : 1116.
- 36- LINNEN J., ZHANG-KECK ZY., FUNG K. et al. Genetic organization and sequence variation of the hepatitis G virus (HGV). *Hepatology*, 1995, 22 : 181 A-AASLD abstract 299.
- 37- LINNEN J., WAGES J., ZHANG-KECK ZY., FRY KE., KRAWCZYNSKI KZ., ALTER H. Molecular cloning and disease association of hepatitis G virus : a transfusion-transmissible agent. *Science*, 1996, 271 : 505-508.
- 38- LINNEN J., WAGES J., ZHANG-KECK ZY., FRY KE., KRAWCZYNSKI KZ., ALTER E., KOONIN E., GALLAGHER M., ALTER M., HADZIYANNIS S., KARAYIANNIS P., FUNG K., NAKATSUJI Y., SHIH JWK., YOUNG L., PIATAK M., HOOVER C., FERNANDEZ J., CHEN S., ZOU JC., MORRIS T., HYAMS KC., ISMAY S., LIFSON JD., HESS G., FOUNG SHK., THOMAS H., BRADLEY D., MARGOLIS H., KIM JP. Molecular cloning and disease association of hepatitis G virus : a transfusion-transmissible agent. *Science*, 1996, 271 : 505-508.
- 39- LOU S., QIU X., TEGTMEIER G., LEITZA S., BRACKETTE J., COUSINEAU K., VARMA A., SEBALLOS H., KUNDU S., KUEMMERLE S., HUNT JC. Immunoassays to study prevalence of antibody against GB virus C in blood donors. *J. Virol. Methods*, 1997, 68 : 45-55.

- 40- MINTON J. Transfusion-associated hepatitis G virus infection. *Rev. Med. Microbiol.*, 1998, 9 : 207-215.
- 41- MOAVEN LD., TENNAKOON PS., BOWDEN DS., LOCARNINI SA. Mother to baby transmission of hepatitis G virus. *MJA*, 1996, 165 : 84-85.
- 42- MUERHOFF AS., LEARY TP., SIMONS JN., PILOT-MATIAS TJ., DAWSON GJ., ERKER JC. Et al. Genomic organization of GB viruses and B : two new members of the *Flaviviridae* associated with GB agent hepatitis. *J. Virol.*, 1995, 46 : 81-90.
- 43- NAITO H., WIN KM., ABE K. Identification of a novel genotype of hepatitis G virus in Southeast Asia. *J. Clin. Microbiol.* 1999, 37 : 1217-1220.
- 44- PARKS WP., MELNICK JL. Attempted isolation of hepatitis virus in marmosets. *J. Infect. Dis.*, 1969, 120 : 539-547.
- 45- PAWLOTSKY JM., LEFRERE JJ., DHUMEAUX D., DENIS F. Nouveaux virus d'hépatites reliés aux *Flaviviridae* : le virus de l'hépatite G et les virus GB. In « Les virus transmissibles par le sang ». LEFRERE J.J. Ed. *John Libbey Eurotext* Montrouge 1996, 77-93.
- 46- PAWLOTSKY JM., ROUDOT-THORAVAL F., MUERHOFF AS., PELLERIN M., GERMANIDIS G., DESAI SM., BASTIE A., DARTHUY F., REMIRE J., ZAFRANI ES., SOUSSY CJ., MUSHAHWAR IK., DHUMEAUX D. GB virus C (GBV-C) infection in patients with chronic hepatitis C. Influence on liver disease and on hepatitis virus behaviour : effect of interferon alfa therapy. *J. Med. Virol.*, 1998, 54 : 26-37.
- 47- PAYAN C., LUNEL F. le virus de l'hépatite G ou GBV-C. *Méd. Thérapeutique*, 1999, 7 : 545-548.
- 48- PERSICOT T., THIERS V., TUVÉRIL R. et al. Détection de l'ARN du virus de l'hépatite G/GBV-C mais pas de l'ARN du VHC dans les différentes fractions du sperme de sujets anti-VHC +. *Gastroentérol. Clin. Biol.*, 1996, 20 : 794.
- 49- PICKERING JM., THOMAS HC., KARAYIANNIS P. Genetic diversity between hepatitis G virus isolates : analysis of nucleotide variation in the NS-3 and putative « core » peptide genes. *J. Gen. Virol.*, 1997, 78 : 53-60.
- 50- PILOT-MATIAS TJ., MUERHOFF AS., SIMONS JN., LEARY TP., BUIJK SL., CHALMERS ML., ERKER JC., DAWSON GJ., DESAI SM., MUSHAHWAR IK. Identification of antigenic regions in the GB hepatitis viruses GBV-A, GBV-B, and GBV-C. *J. Med. Virol.*, 1996, 48 : 329-338.
- 51- RADKOWSKI M., WANG LF., CIANCIARIA J., RAKELA J., LASKUS T. Analysis of hepatitis G virus/GB virus C quasi-species and replication sites in human subjects. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1999, 258 : 296-299.
- 52- ROBERTSON B., MYERS G., HOWARD C., BRETTIN T., BUKH J., GASCHEN B., GOJOBORI T., MAERTENS G., MIZOKAMI M., NAINAN O., NETESOV S., NISHIOKA K., SHIN-I T., SIMMONDS P., SMITH D., STUYVER L., WEINER A. Classification, nomenclature, and database development for hepatitis C virus (HCV) and related viruses : proposals for standardization. *Arch. Virol.*, 1998, 143 : 2493-2503.
- 53- ROSS RS., VIAZOV S., SCHMITT U., SCHMOLKE S., TACHE M., OFENLOCH-HAEHNLE B., HOLTSMANN M., MULLER N., DA VILLA G., YOSHIDA CF., OLI-

- VEIRA JM., SZABO A., PALADI N., KRUPPENBACHER JP., PHILIPP T., ROGGENDORF M. Distinct prevalence of antibodies to the E2 protein of GB virus C/hepatitis G virus in different parts of the world. *J. Med. Virol.*, 1998, 54 : 103-106.
- 54- SALVEY LA., HYLAND CA., MISON L., SOLOMON N., GOWANS EJ. Is there evidence for vector transmission of GBV-C ? *Lancet*, 1998, 351 : 1104.
- 55- SCHMIDT B., KORN K., FECKENSTEIN B. et al. Molecular evidence for transmission of hepatitis G virus by blood transfusion. *Lancet*, 1996, 347 : 909.
- 56- SCHROTER M., FEUCHT HH., SCHAFFER P., ZOLLNER B., LAUFS R. GB virus C/hepatitis G virus infection in hemodialysis patients : determination of seroprevalence by a four-antigen recombinant immunoblot assay. *J. Med. Virol.*, 1999, 57 : 230-234.
- 57- SHIMIZU YK., HIJIKATA M., KIYOHARA T., KITAMURA Y., YOSHIKURA H. Replication of GB virus C (hepatitis G virus) in interferon-resistant Dausi cells. *J. Virol.*, 1999, 73 : 8411-8414.
- 58- SIMONS JN., SURESH M., DESAI SM., MUSHAHWAR IK. The GB viruses : isolation, characterization, diagnosis and epidemiology. *Viral. Hepatitis*, 1996, 2 : 229-246.
- 59SIMONS JN., LEARY TP., DAWSON GJ., PILOT-MATIAS TJ., MUERHOFF AS., SCHLAUDER GG., DESAI SM., MUSHAHWAR IK. Isolation of novel virus-like sequences associated with human hepatitis. *Nat. Med.*, 1995, 1 : 564-569.
- 60- STARK K., BIENZLE U., HESS G., ENGEL AM., HEGEN-SCHEID B., SCHLÜTER V. Detection of the hepatitis G virus genome among injecting drug users, homosexual and bisexual men and blood donors. *J. Infect. Dis.*, 1996, 174 : 1320-1323.
- 61- SUZUKI Y., KATAYAMA K., FUKUSHI S., KAGEYAMA T., OYA A., OKAMURA H., TANAKA Y., MIZOKAMI M., GOJOBORI T. Slow evolutionary rate of GB virus C/hepatitis G virus. *J. Mol. Evol.*, 1999, 48 : 383-389.
- 62- TACKE M., SCHOLKE S., SCHLUETER V. et al. Humoral immune response to the E2 protein of hepatitis G virus is associated with long-term recovery from infection and reveals a high frequency of hepatitis G virus exposure among healthy blood donors. *Hepatology*, 1997 ; 26 : 1626-1633.
- 63- TACKE M., KIYOSAWA K., STARK K., SCHLUETER V., OFENLOCH-HAEHNLE B., HESS G., ENGEL AM. Detection of antibodies to a putative hepatitis G virus envelope protein. *Lancet*, 1997, 349 : 318-320.
- 64- TAGGER A., DONATO F., RIBERO ML. et al. A case control study on GB virus C/hepatitis G virus infection and hepatocellular carcinoma. *Hepatology*, 1997 : 26 ; 1653-1657.
- 65- TAN D., MATSUMOTO A., CONRY-CANTILENA C., MELPOLDER JC., SHIH JW., LAUTHER M., HESS G., GIBBLE JW., NESS PM., ALTER HJ. Analysis of hepatitis G virus (HGV), antibody to HGV envelope protein, and risk factors for blood donors coinfecting with HGV and hepatitis C virus. *J. Infect. Dis.*, 1999, 179 : 1055-1061.
- 66- TANAKA T., HESS G., SCHLUETER V., ZDUNEK D., TANAKA S., KOHARA M. Correlation of interferon treatment response with GBV-C/HGV genomic RNA and anti-envelope 2 protein antibody. *J. Med. Virol.*, 1999, 57 : 370-375.

- 67- XIANG J., KLINZMAN D., Mc LINDEN J., SCHMIDT WN., LaBRECQUE DR., GISH R., STAPLETON JT. Characterization of hepatitis G virus (GB-C virus) particles : evidence for a nucleocapsid and expression of sequences upstream of the E1 protein. *J. Virol.*, 1998, 72 : 2738-2744.
- 68- YAMADA-OSAKI M., SUMAZAKI R., TSUCHIDA M., KOIKE K., FUKUSHIMA T., MATSUI A. Persistence and clinical outcome of hepatitis G virus infection in pediatric bone marrow transplant recipients and children treated for hematological malignancy. *Blood*, 1999, 93 : 721-727.
- 69- ZAIDI Y., CHAPMAN CS., MYINT S. Aplastic anaemia after HGV infection. *Lancet*, 1996, 348 : 471-472.

Ce nouveau virus a été découvert en 1997 par Nishizawa et al [6] et désigné par les initiales d'un patient (TT) présentant une hépatite post-transfusionnelle... et non comme on l'affirme souvent par l'acronyme TTV pour « *Transfusion Transmitted Virus* ».

Ce virus a été mis en évidence grâce au procédé de PCR soustractive, appelée *Representational difference analysis* (RDA) schématisé dans la figure 1.

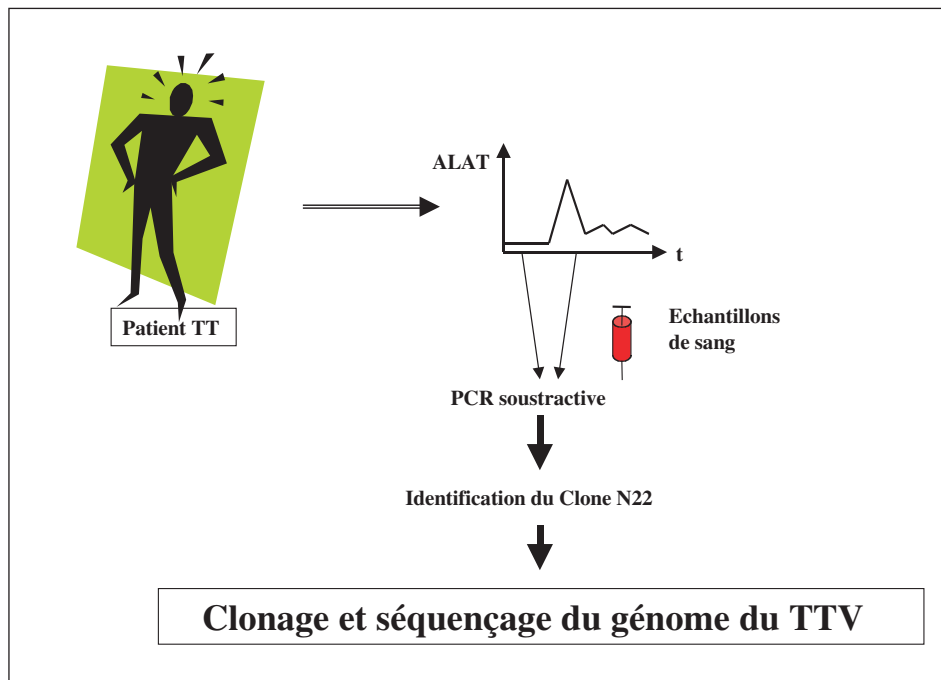


Figure 1 : Découverte et caractérisation du TTV

Par PCR soustractive (representational difference analysis, RDA) à partir de sérum du patient TT, un premier clone contenant la séquence N22 (500 pb) a été identifié à partir duquel le reste du génome a été analysé.

La RDA est une technique de PCR qui amplifie par amplifications sélectives successives des ADN uniques au sein d'un mélange d'acides nucléiques. Ces ADN sont identifiés par comparaison avec un deuxième mélange d'ADNs très proche du premier dans sa composition, par exemple le plasma d'un sujet avant et après infection par le virus à identifier.

I. CARACTÉRISTIQUES DU VIRUS

I.1- Classification

On a considéré que le TTV était apparenté à la famille des *Parvoviridae*, mais en fait il est sans homologie pour les séquences en acides aminés avec les autres parvovirus connus, notamment avec le parvovirus B19 [3].

Tableau I : Caractéristiques comparées du TTV, du CAV et du parvovirus B19 adapté de Bendinelli et al [1]

Propriétés	Parvovirus B19	Circovirus porcine (CAV)	TTV
Structure virale			
Forme	Non enveloppé Nucléocapside isométrique. Des projections peuvent être présentes	Non enveloppé Nucléocapside isométrique. Des projections peuvent être présentes	Parvovirus - like ou Circovirus - like
Taille (nm)	18-22	23-25	30-35
Symétrie	Icosaédrique	Icosaédrique	Icosaédrique
Propriétés physiochimiques			
Densité CsCl (g/ml)	1,38-1,51	1,33-1,34	1,21-1,35
Stabilité	Résistance aux solvants, à la chaleur sèche et aux pH acides	Résistance aux solvants, à la chaleur sèche et aux pH acides	Résistance aux solvants, à la chaleur sèche et probablement aux pH acides
Génome			
Type	ADN simple brin	ADN simple brin	ADN simple brin
Taille	~ 5,0 kb	~ 2,3 kb	~ 3,8 kb
Forme	Linéaire	Circulaire	Circulaire
Polarité	Négative et positive	Négative	Négative
ORFs	ORF-S et ORF-L	VP1, VP2, VP3 et autres plus petits	ORF1, ORF2 et autres plus petits
Variabilité	Faible	Faible	Élevée

Il s'agit d'un virus nu à ADN circulaire simple brin négatif d'environ 3 850 bases. Du fait de sa structure, il est apparenté aux *Circoviridae*, virus jusque là retrouvés seulement dans le monde animal [4]. Ses caractéristiques sont représentées comparativement à celles du *Circovirus* porcine et du parvovirus B19 (tableau I).

Il constitue peut-être le premier représentant d'une nouvelle famille, celle des *Circinoviridae*.

I.2- Génome

Son génome est représenté schématiquement dans la figure 2.

Le génome comporte plusieurs cadres ouverts de lecture dont deux majeurs (ORF1, ORF2). On a récemment identifié au niveau du génome des zones hypervariables (HVR-1, HVR-2, HVR-3).

Les différentes souches de ce virus présentent une variabilité qui a permis de distinguer plusieurs grands génotypes en s'appuyant soit sur le génome complet soit sur la région 5' non codante. On reconnaît trois types chez les chimpanzés et au moins trois types importants chez l'homme. Certains auteurs vont jusqu'à reconnaître 7 voire 10 types différents [9]. Les souches humaines sont selon les types plus ou moins proches des souches simiennes, mais elles en sont néanmoins distinctes.

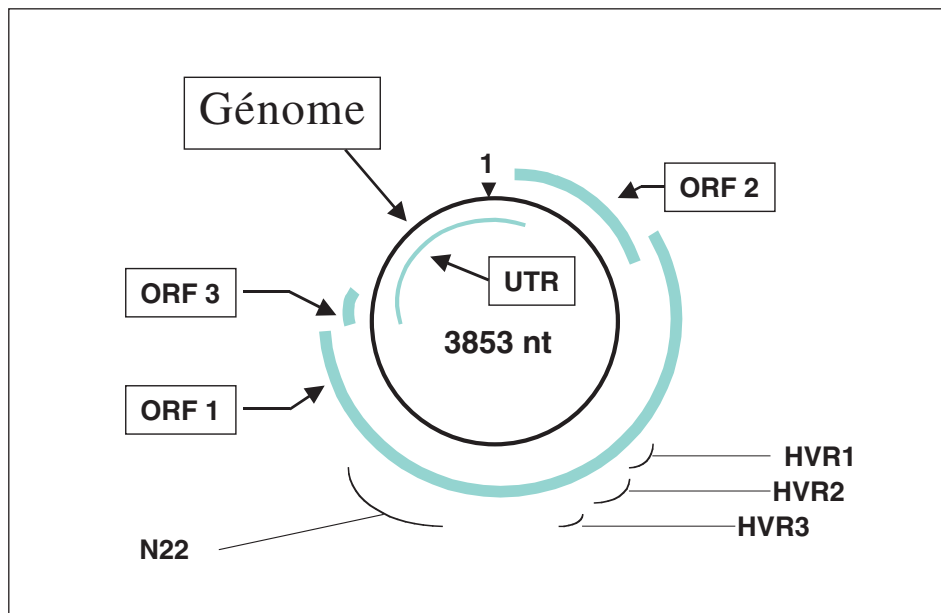


Figure 2 : Organisation du génome du TTV.

ADN simple brin circulaire de polarité négative. Sur le brin complémentaire ont été identifiées trois phases ouvertes de lecture (open reading frame, ORF) : ORF1 (possible protéine de capsid), ORF2 (protéine non structurale associée à la réplication ?), ORF3 (fonction inconnue), et une région non codante, UTR. **N22** : première séquence de TTV identifiée, actuellement utilisée pour le typage moléculaire des souches et la surveillance épidémiologique. HVR : région hypervariable du génome. **1** : origine de réplication.

■ II. DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE

Le diagnostic actuel est un diagnostic direct reposant sur la recherche sur sérum ou plasma du génome par PCR, plus exactement par PCR nichée ou semi nichée, en amplifiant les zones conservées entre les variants les plus divergents actuellement connus ; on a amplifié tout d'abord la région ORF1 (N22) plus récemment l'UTR région non codante. La PCR amplifiant cette zone est plus performante (tableau II).

Selon Simmonds, la virémie quantitative se situe entre 50 et 50 000 copies ADN/ml (moyenne géométrique 620) [8].

On ne dispose pas à ce jour de test sérologique permettant une détection d'antigène pas plus qu'un diagnostic indirect par sérodiagnostic, mais un diagnostic par recherche d'anticorps est envisageable, encore faut-il que les anticorps soient contemporains de la virémie et ne constituent pas seulement les stigmates d'une infection ancienne.

La persistance de la virémie chez des patients asymptomatiques pose un problème de compréhension du mécanisme qui permet au virus d'échapper aux moyens de défense de l'hôte.

■ III. ÉPIDÉMIOLOGIE

Le TTV est essentiellement transmis par le sang (transfusion, produits dérivés) et par voie fécale-orale, mais des cas de transmission de la mère à l'enfant existent ; cette transmission

Tableau II : Prévalence de la virémie TTV et épidémiologie moléculaire dans différentes parties du monde

Pays	Positivité PCR		Génotypes identifiés
	ORF1	UTR	
Afrique			
Congo	43-44		1,2,ANT
Égypte	29	85	1,2
Gambie	86		1,2,ANT
Kenya	Non connu		1-3, 8-10
Niger	52		1,2,3,ANT
Soudan	7		2
Asie			
Chine	5-11		1,2
Japon	10-58	70-93	1,2,3,4-8,ANT
Corée	14		1,2,4
Mongolie	43		1,2,4
Myanmar	-	96	1,2
Népal	-	82	1,2,4
Pakistan	16		1,2,3
Arabie Saoudite	19	100	1
Singapour	-	98	-
Taiwan	10-53		-
Thaïlande	7-36		1,2,3
Europe			
Finlande	17	73	-
France	5		1,2,ANT
Allemagne	7-14		1,2,3,4,ANT
Italie	9-50		1,2,3,4
Espagne	14		1,2,ANT
Hollande	-	72	-
Angleterre	2-10	47-57	1,2,3,ANT
Amérique du Nord			
USA	1-11		1,2,11
Océanie			
Papouasie-Nouvelle Guinée	75		1,3,ANT
Amérique du Sud			
Bolivie	-	82	1
Brésil	20-62		1,2,3,ANT
Colombie	16		1,2,4
Équateur	71		1,2,ANT

ANT : autres non typés.

se produit soit *in utero*, soit en période périnatale voire post-natale par l'allaitement (plus de 70 % des mères virémiques auraient du virus dans leur lait).

Il est présent chez les sujets virémiques dans près de 20 % des selles et dans 70 % des salives avec des titres 100 à 1 000 fois plus élevés dans la salive que dans le sérum.

Dans les pays où les conditions sanitaires sont précaires, la transmission communautaire semble prédominante.

Le virus est largement distribué dans la population générale : 2 à 12 % des donneurs de sang en sont porteurs. Le risque augmente avec l'exposition parentérale ; ainsi la fréquence de la virémie chez les hémophiles, les toxicomanes par voie intraveineuse et les hémodialysés dépasse 20 % et peut même atteindre 68 %.

Les données les plus récentes font état de taux considérables de virémies dans les pays en développement même dans la population générale : Afrique sub-saharienne : 40 % à 86 %, Amérique du sud : 59 % à 74 %, Papouasie Nouvelle Guinée : 74 %. Ces taux remettent en cause les modalités de transmission du virus. Une revue de la littérature mondiale permet de se faire une idée de la diffusion mondiale du virus et de la répartition des génotypes (tableau II).

■ IV. POUVOIR PATHOGÈNE

IV.1- Expérimental chez l'animal

Une étude expérimentale a été conduite chez les chimpanzés ; chez ces animaux après inoculation parentérale, le virus apparaît dans les 3 à 4 mois, et persiste 1 à 2 mois sans passage à la chronicité. Il faut souligner le fait qu'aucune élévation des transaminases, ni aucune lésion hépatique n'ont été observées chez ces animaux.

L'inoculation au tamarin est restée infructueuse.

IV.2- Chez l'homme

Le pouvoir pathogène initialement soupçonné était essentiellement hépatique. Les études princeps de Nishizawa et al [6] laissaient penser que les receveurs de sang contaminés par le TTV présentaient une virémie transitoire sur 15 à 21 semaines. Par la suite, différents travaux penchaient en faveur d'une virémie durable, puisque retrouvée chez des sujets ayant reçus 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 présence n'est pas forcément corrélée avec une pathologie chronique.

L'implication du TTV dans les hépatites post-transfusionnelles, argumentée initialement sur une association virémie-transaminases élevées [6], est discutée par Simmonds et al [5] devant l'absence des symptômes chez les receveurs de sang et la rareté des hépatites post-transfusionnelles sans rapport avec la fréquence des virémies trouvées dans la population générale et chez les donneurs de sang.

Les travaux de Naoumov et al [5] vont dans le même sens puisque pour ces auteurs, 58 % des sujets présentant une virémie pour le 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 chroniques dans leur ensemble, notamment B ou C (environ 20 %) et non B non C (38 %) [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, même si le virus est présent dans le foie ou dans la bile à un titre élevé.

Le pouvoir pathogène est également battu en brèche par les résultats des PCR utilisant des amorces dans les régions non codantes qui ont révélé des prévalences considérables avec détection génomique dans le plasma de 80 % voire 90 % des sujets avec une réplication active, mais sains.

Toutefois, on ne peut exclure l'hypothèse selon laquelle seulement certains génotypes ou variants du TTV pourraient être impliqués dans des hépatites aiguës ou chroniques [9].

■ V. PRÉVENTION ET TRAITEMENT

L'opportunité d'un dépistage en transfusion sanguine (par PCR) a été évoquée dès la découverte du virus. L'étude des différents procédés d'inactivation virale appliqués aux produits sanguins a été entreprise. En l'absence de pathologies associées à ce virus, aucune mesure concrète de prévention n'a été prise à ce jour.

Le virus est sensible à l'interféron α et la surveillance de l'ADN du TTV permet de vérifier que les génomes deviennent indétectables chez un peu moins d'un sujet traité sur deux. La réponse à l'interféron est inversement proportionnelle au titre viral avant mise sous traitement ; certaines souches résistent à l'interféron sans que l'on ait élucidé le mécanisme d'échappement.

■ CONCLUSION

Le TTV est un virus ancien [2], largement distribué dans les populations, pouvant être retrouvé chez 80 voire 90 % des individus dans certaines zones géographiques. Il est transmis selon différentes modalités : sur le mode parentéral, mais aussi sur le mode fécal-oral. La présence du TTV dans de nombreux compartiments, de même que sa transmission verticale, explique certainement la large diffusion du virus dans la population générale.

En ce qui concerne la signification d'une virémie TTV, s'agit-il d'un virus résident non pathogène ou d'un virus impliqué dans des pathologies à découvrir, agissant soit isolément soit en association avec un autre virus ? Il n'est pas possible actuellement de répondre à ces questions.

On ne peut lui attribuer actuellement un pouvoir pathogène, mais une pathogénicité peut éventuellement être associée à certains variants ou génotypes. À ce jour, les virémies ne sont pas associées à des élévations des transaminases ou à des lésions hépatiques.

Le TTV ne saurait actuellement être classé parmi les virus des hépatites [7].

BIBLIOGRAPHIE

- 1- BENDINELLI M., PISTELLO M., MAGGI F., FORNAI C., FREER G., VATTE-
RONI ML. Molecular properties, biology and clinical implications of TT virus a recently
identified widespread infectious agents of humans. *Clin. Microbiol. Reviews*, 2001 ; 14 :
98-113.
- 2- BIAGINI P., GALLIAN P., ATTOUI H., CANTALOUBE JF., DE MICCO P., DE
LAMBALLERIE X. Determination and phylogenetic analysis of partial sequences from
TT virus isolats. *J. Gen. Virol.*, 1999, 80 : 419-424.
- 3- DENIS F., VENOT C., ROGEZ S. Le TTV, nouveau virus apparenté aux parvovirus,
transmissible par le sang, est-il pathogène ? *Spectra Biologie*, 1998 ; 17 : 31-33.
- 4- MUSHAHWAR IK., ERKER JC., MUEHROFF AS., LEARY TP., SIMONS JN.,
BIRKENMEYER LG., CHALMERS ML., PILOT-MATIAS TJ., DEXAI SW. Molecular
and biophysical characterization of TT virus. Evidence for a new virus family infecting
humans. *Proceedings of National Academy of Sciences USA*, 1999 ; 96 : 3177-3182.
- 5- NAOUMOV N., PETROVA EP., THOMAS MG., WILLIAMS R. Prevalence of a
newly described human DNA virus (TTV) in patients with liver disease. *Lancet*, 1998 ;
352 : 195-197.
- 6- NISHIZAWA T., OKAMOTO H., KONISHI K., YOSHIZAWA H., MIYAKAWA
Y., MAYUMI M. A novel DNA virus (TTV) associated with elevated transaminase levels
in post transfusion hepatitis of unknown etiology. *Biochemistry Biophysic Research
Communications*, 1997 ; 241 : 92-97.
- 7- PAYAN C., LUNEL F. Le virus TT : un nouveau virus des hépatites. *Gastroentérolo-
gie Clinique Biologique*, 1999 ; 23 : 1207-1209.
- 8- SIMMONDS P., DAVIDSON F., LYCETT C., PRESCOTT LE., Mac DONALD 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 : 191-195.
- 9- ZEHENDER G., MANZIN A., DE MADDALENA C., COLASANTE C., SOLFO-
ROSI L., CORSI F., BIANCHI-BOSISIO A., GIROTTO M., SCHIRRU I., RUSSO V.,
GOLLI M., CLEMENCI M. Molecular epidemiology of TT virus in Italy and phylogene-
sis of viral isolates from different subjects at different risk for parenteral exposure. *Journal
of Medical Virology*, 2001 ; 63 : 76-84.

EGOPRIM
30/32 rue du Couëdic - 75014 Paris
Septembre 2001
Dépôt légal septembre 2001

ISSN : 1293-2892
ISBN : 2-913633-30-7



ADDENDUM au Cahier de Formation numéro 21

Cher Confrère,

Dans l'ouvrage que vous avez reçu récemment : « Virus des Hépatites », numéro 21 des Cahiers de Formation BIOFORMA, les schémas et illustrations concernant les exemples de RIBA (pages 94 et 97) ont été colorisés en vue de faciliter leur lecture.

Habituellement les experts s'accordent à préférer que soit conservée une gradation de gris pour apprécier l'intensité de la bande observée.

Vous trouverez ci-joint les schémas et figures concernés exprimés dans cette configuration.

Nous nous attachons à apporter au contenu de nos Cahiers de Formation l'attention scientifique la plus rigoureuse possible. Tel est le but de cet addendum que vous voudrez bien glisser dans le Cahier numéro 21 : Virus des hépatites.

Je vous prie de croire, Cher Confrère, en mes sentiments confraternels et cordiaux.

Adrien BEDOSSA
Président

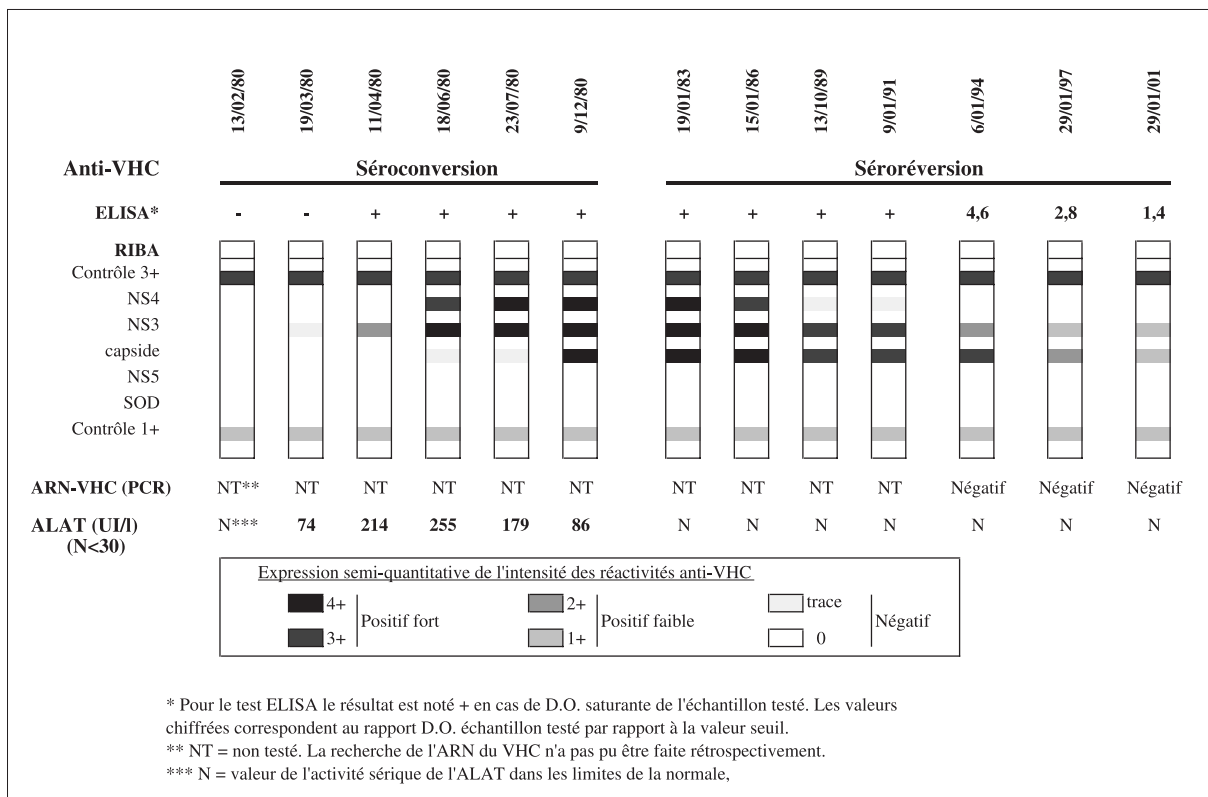


Figure 5 : Séroconversion suivie d'une séroréversion chez un malade hémodialysé

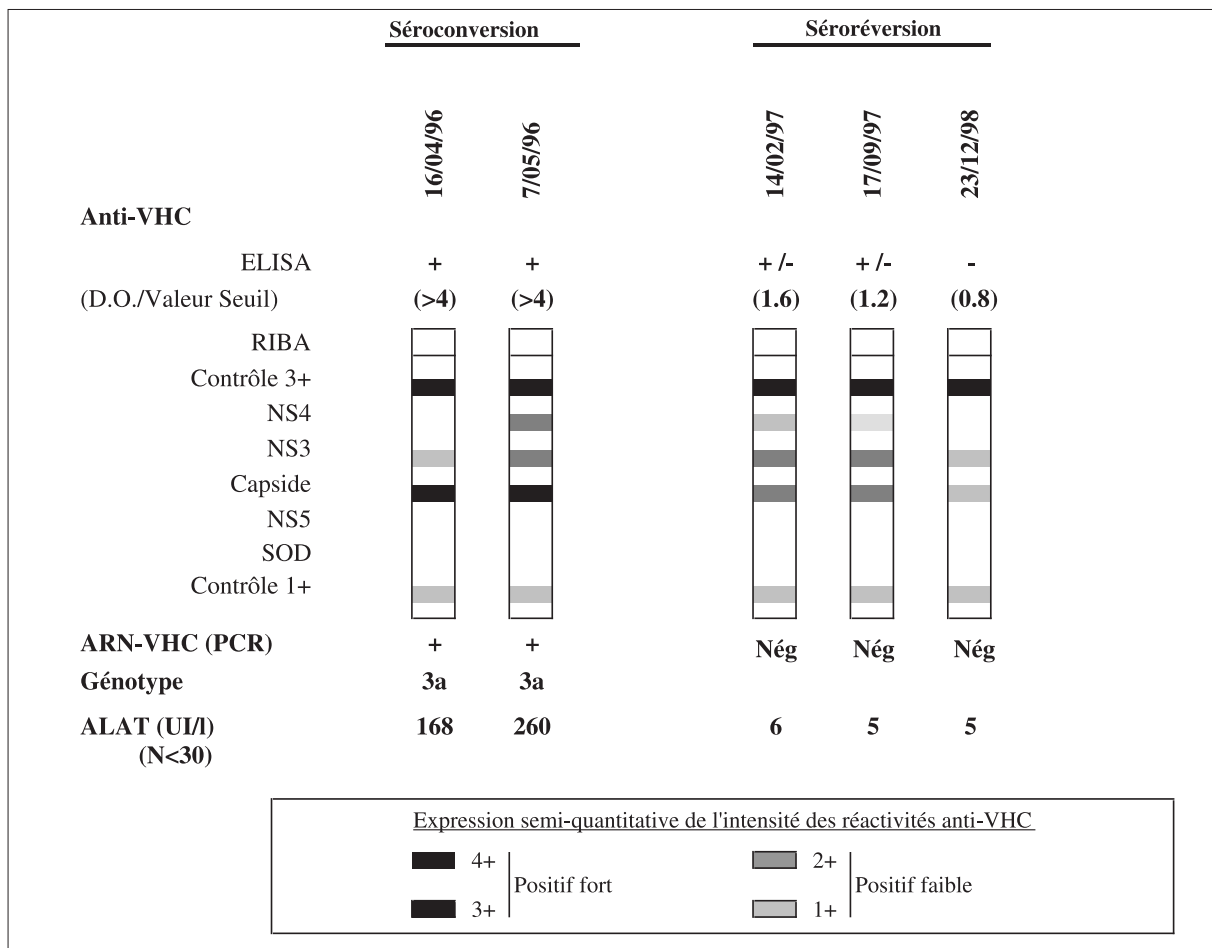


Figure 6 : Infection par le VHC évoluant vers la guérison : séroréversion rapide

CAHIER DE
Formation
version numérique

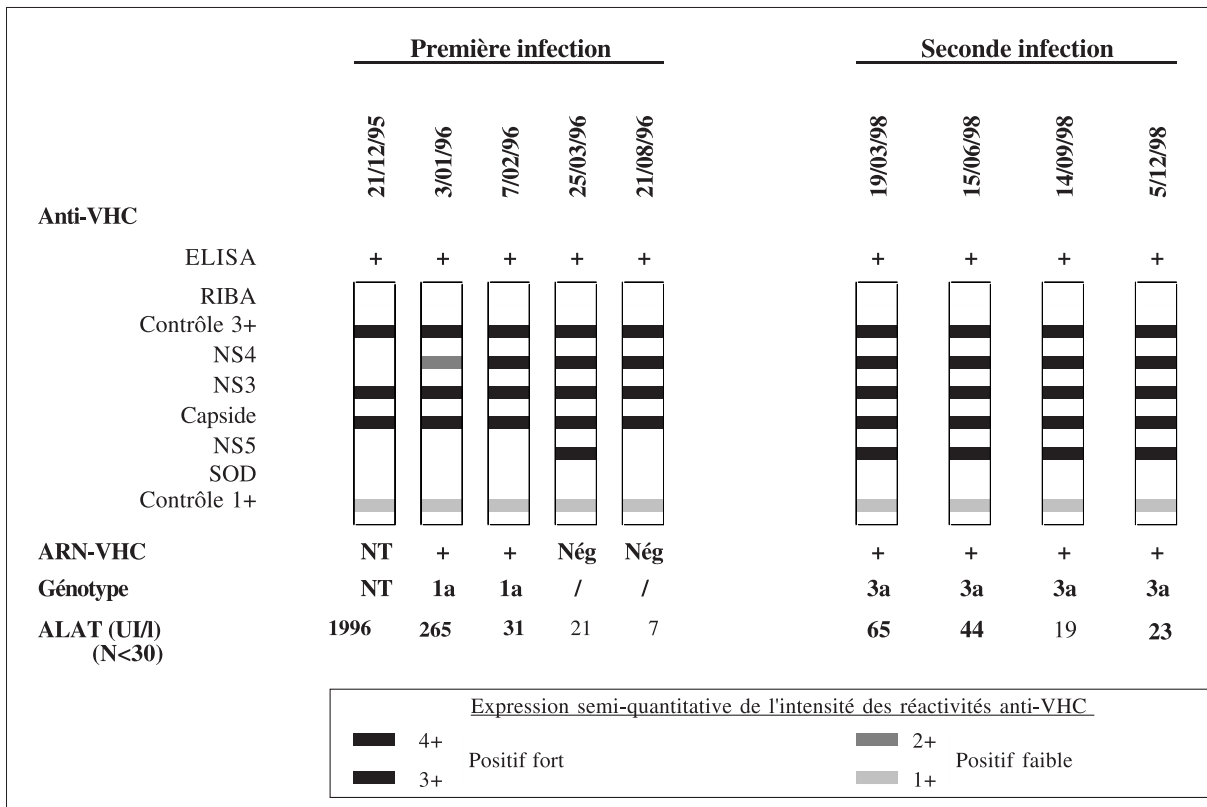


Figure 7 : Évolution des marqueurs sériques à la suite de deux infections successives par le VHC

Cahiers de formation déjà parus

- | | |
|--|--|
| N° 1 : <i>HÉMATOLOGIE</i> | N° 15 : <i>DÉPISTAGE</i> |
| N° 2 : <i>IMMUNOANALYSE</i> | <i>DE LA TRISOMIE 21</i> |
| N° 3 : <i>PARASITOLOGIE</i> | N° 16 : <i>IMMUNO-ALLERGIE (2)</i> |
| N° 4 : <i>BACTÉRIOLOGIE</i> | N° 17 : <i>VIRUS DES HÉPATITES</i> |
| N° 5 : <i>HORMONOLOGIE</i>
<i>GAZOMÉTRIE</i> | <i>A (VHA) et E (VHE)</i> |
| N° 6 : <i>G.B.E.A.</i> | N° 18 : <i>DOSAGE DES MÉDICAMENTS</i> |
| N° 7 : <i>IMMUNO-ALLERGIE (1)</i> | <i>TOME II</i> |
| N° 8 : <i>HÉMOGLOBINES GLYQUÉES</i>
<i>LIPIDES</i> | N° 19 : <i>VAGINITES ET VAGINOSES</i> |
| N° 9 : <i>DOSAGE DES MÉDICAMENTS</i>
<i>TOME I</i> | N° 20 : <i>HÉMOSTASE ET THROMBOSE</i> |
| N° 10 : <i>HÉMATOLOGIE</i>
<i>CAS ILLUSTRÉS</i> | N° 21 : <i>VIRUS DES HÉPATITES</i>
<i>B (VHB), DELTA (VDH),</i>
<i>C (VHC), AUTRES</i> |
| N° 11 : <i>AMIBES ET FLAGELLÉS</i>
<i>INTESTINAUX</i> | N° 22 : <i>SYNDROME</i>
<i>DES ANTI-PHOSPHOLIPIDES</i> |
| N° 12 : <i>LES MALADIES A PRIONS</i> | N° 23 : <i>PARASITES SANGUINS</i> |
| N° 13 : <i>AUTOIMMUNITÉ</i>
<i>ET AUTOANTICORPS</i> | N° 24 : <i>BIOCHIMIE PEDIATRIQUE</i> |
| N° 14 : <i>L'EXPLORATION</i>
<i>DE LA THYROÏDE</i> | N° 25 : <i>LES MOISSISSURES</i>
<i>D'INTÉRÊT MÉDICAL</i> |

BIOFORMA est la structure nationale qui gère et organise la formation continue conventionnelle des directeurs et directeurs adjoints de L.a.b.m. privés.

Cette formation continue est financée par les trois Caisses Nationales de l'Assurance Maladie (C.N.A.M.T.S., C.C.M.S.A., et C.A.N.A.M.) dans le cadre de la convention passée entre elles et les trois syndicats de biologistes. (S.d.B., S.N.M.B., et S.L.B.C.).

A ce titre, BIOFORMA édite des cahiers de formation comme celui-ci.

Ces ouvrages sont distribués à chaque laboratoire d'analyse de biologie médicale, privés et hospitaliers, aux inspecteurs des DRASS, aux pharmaciens et médecins conseils des CRAM, aux responsables de la DGS et du Ministère de la Santé. Les précédents numéros, ou épuisés en version papier, seront disponibles à la consultation sur le site Internet www.bioforma.net à partir de 2002.

Ces livres ne sont pas en vente dans le commerce et le tirage est de 6 500 exemplaires.