



HEPATITE C

Diagnostic et suivi biologiques

Editorial

Le virus de l'hépatite C (VHC) a été décrit en 1989 comme principal agent responsable des hépatites non-A non-B, après identification par des techniques de biologie moléculaire (clonage et séquençage). L'hépatite C représente un important problème de santé publique en France avec environ 400 à 500 000 porteurs. C'est une des principales causes de transplantation hépatique en France et aux Etats-Unis. Un tiers de la mortalité par cirrhose et cancer primitif du foie en France serait lié à l'Hépatite C, soit environ 4000 morts par an.

La biologie trouve toute son importance dans le diagnostic et le suivi des patients. C'est pourquoi, nous avons consacré le 58^{ème} numéro de "La Lettre" à ce sujet.

Le virus

Le VHC est un virus enveloppé de 55 à 65 nm de diamètre. L'enveloppe, porteuse des protéines virales E1 et E2, contient une capsidie de symétrie icosaédrique qui protège un ARN monocaténaire de polarité positive d'environ 9,4 Kb. Il appartient à la famille des *Flaviviridae*, qui regroupe le genre *Flavivirus*, avec de nombreux arbovirus comme le virus de la Fièvre Jaune et les virus de la Dengue, et le genre *Pestivirus*, avec des virus responsables de nombreuses pathologies animales. Le VHC est classé dans un troisième genre, celui des *Hepacivirus*, dont il est le seul représentant.

Le VHC présente une variabilité génétique importante qui a permis de définir des génotypes (80 % d'homologie) et de les classer secondairement en

sous-types (90 % d'homologie). Six génotypes principaux ont été décrits, numérotés de 1 à 6, avec un certain nombre de sous-types, identifiés par une lettre minuscule (1a, 1b, etc.).

Epidémiologie, Transmission

La transmission du VHC est parentérale dans au moins 60 à 70 % des cas. Les deux principaux modes de transmission sont la transfusion sanguine, avant le test systématique des dons, et la toxicomanie par voie intraveineuse, par échange de seringues ou de produits contaminés. Le nombre de nouveaux cas en France est estimé à 4000 à 5000 cas par an, dont 80 % seraient liés à la toxicomanie par voie intraveineuse.

La transmission sexuelle du VHC est possible, mais rare. Seuls 3 à 6 % des partenaires réguliers de sujets infectés par le VHC ont eux-mêmes des marqueurs d'infection.

La transmission intra-familiale semble possible au vu de la prévalence plus élevée des Ac anti-VHC chez les membres de la famille des patients infectés. Le mécanisme de cette transmission, encore inconnu, pourrait être lié à un mode parentéral, par partage d'objets potentiellement en contact avec le sang, tels rasoir, brosse à dents, ciseaux...

La transmission mère-enfant a été démontrée. Elle est fréquente (20 %) en cas de coinfection VHC-VIH, et rare (autour de 3 %) chez les mères non infectées par le VIH. Ce risque est d'autant plus élevé que la charge virale circulante maternelle en ARN VHC est élevée. La transmission serait plutôt périnatale.

La transmission par l'allaitement n'a pas été démontrée mais ne peut pas être totalement exclue.

Dans 30 % des cas, voire plus, aucun facteur de risque d'infection n'est retrouvé. Il semble pourtant

que la plupart de ces patients ont été contaminés par voie parentérale : transfusion ou injection de produits sanguins dont la trace a été perdue, transmission nosocomiale (soins dentaires, chirurgie, explorations "agressives"), acupuncture, tatouage, etc. Les populations à risque élevé d'infection sont actuellement les polytransfusés surtout avant 1990, les transplantés, les hémophiles, les hémodialysés, les toxicomanes par voie intraveineuse et le personnel de santé.

Clinique

Après une incubation de 4 à 12 semaines, l'infection par le VHC provoque une hépatite aiguë souvent bénigne, le plus souvent asymptomatique (90 % des cas). L'élévation des transaminases est constante, mais les formes ictériques sont rares. Il n'y a pas de formes fulminantes. Seules 25 à 30 % des hépatites C aiguës guérissent spontanément. Ce chiffre est plus élevé chez l'enfant. Dans environ 70 % des cas, l'hépatite aiguë évolue vers la chronicité, avec une évolution plus ou moins rapide vers la fibrose, associée à des désordres immunitaires : maladies à complexes immuns (cryoglobulinémie mixte, glomérulonéphrite membrano-proliférative), présence d'auto-anticorps circulants, etc.

Au contraire d'autres infections virales chroniques, la sévérité de l'infection n'est pas liée à la quantité de virus détectée dans le sang périphérique. La sévérité des lésions hépatiques est évaluée par l'histologie de la ponction biopsie hépatique selon la classification Metavir, qui associe un score de fibrose (F0 à F4) à un score d'activité nécrotico-inflammatoire (A0 à A3).

L'évolution vers la cirrhose concerne environ 20% des patients après 10 ans d'évolution. Une contamination après l'âge de 40 ans, une consommation excessive d'alcool et le sexe masculin sont des facteurs de risque accru d'évolution vers la cirrhose. Environ 3 à 5 % des patients atteints de cirrhose liée au VHC évoluent vers un carcinome hépatocellulaire (CHC) tous les ans. Le CHC ne semble pas pouvoir survenir sans cirrhose préalable.

L'hépatite C de l'enfant, de transmission périnatale, est relativement bénigne et peut guérir spontanément dans les deux premières années de vie. L'évolution vers la cirrhose est exceptionnelle chez l'enfant.

Diagnostic, Suivi

■ Dépistage sérologique d'une hépatite C et confirmation

Recherche des anticorps anti-VHC

Les anticorps anti-VHC apparaissent environ 10 semaines après le contage, au moment de l'hépatite aiguë ou quelques semaines plus tard.

En cas de guérison d'une hépatite C, après une hépatite aiguë (autour de 30 % des cas) ou après un traitement efficace, les anticorps peuvent diminuer, voire devenir indétectables.

Cette diminution semble fonction de la durée de la multiplication virale avant son arrêt et de la réponse immunitaire individuelle. Par ailleurs, les anticorps peuvent être absents lors d'une véritable hépatite C chronique chez des patients produisant peu d'anticorps : hémodialysés, immunodéprimés. Dans ce cas, l'hépatite C ne pourra être démontrée que par la détection de virus.

Le dépistage des anticorps anti-VHC doit obligatoirement utiliser un réactif de type ELISA.

La confirmation d'un dépistage positif doit être faite sur un second prélèvement à l'aide d'un réactif différent du premier utilisé (J.O. du 12/08/97). Ce contrôle a pour but d'éliminer les possibles fausses réactivités, relativement fréquentes, obtenues avec tous les réactifs commercialisés. Le réactif de contrôle peut être un autre ELISA différent du premier ou un test de type immuno-blot.

De manière générale, les fortes positivités initiales sont pratiquement toujours confirmées par un second test. La constatation d'une discordance entre deux ELISA (un résultat limite ou positif et un résultat négatif ou deux résultats limites) ou entre un ELISA positif et un immuno-blot négatif ou indéterminé doit amener à la recherche directe d'une multiplication virale par recherche qualitative d'ARN du VHC dans le sérum.

Le dépistage de l'hépatite C est décrit dans les recommandations de l'ANAES de janvier 2001 de façon très précise ; il s'agit des cas suivants :

- les sujets exposés à des actes médicaux ou ayant des comportements à risque de contamination quantifié et élevé (prévalence > 2 %) ;
- les sujets ayant un facteur d'exposition avec un risque non quantifié ou faible (prévalence < 2 %).

■ Bilan d'une sérologie VHC positive ou indéterminée de découverte récente

Intérêt de la détection qualitative de l'ARN du VHC

L'affirmation d'une infection active par le VHC repose sur la détection de l'ARN du VHC dans le sérum par une technique d'amplification. Sont actuellement utilisables les tests qualitatifs Amplicor HCV[®] de Roche, avec une sensibilité de 100 copies/ml, soit 50 UI/ml et TMA HCV[®] de Bayer, avec une sensibilité de 50 copies/ml (25 UI/ml). D'autres réactifs sont en cours d'évaluation.

Ces tests sont toujours réalisés sur sérum, décanté rapidement et conservé congelé (à -80 °C pour du long terme). Il a été démontré que la congélation du sérum pouvait attendre 72 heures à +4 °C sans entraîner d'altération quantitative de l'ARN viral, mais que la décantation initiale devait être la plus rapide possible pour éviter une dégradation de cet ARN.

La recherche qualitative d'ARN du VHC est indiquée en priorité dans le bilan initial suivant la découverte d'une sérologie VHC positive, en phase aiguë ou chronique, pour affirmer ou infirmer la répllication virale, en parallèle ou successivement à la confirmation de la positivité de la sérologie :

- la détection d'ARN associée à la positivité confirmée de la sérologie signe l'hépatite C répllicative. Les transaminases sont le plus souvent élevées ou subnormales mais peuvent être strictement normales ;



- la détection d'ARN associée à une sérologie négative ou indéterminée est exceptionnelle : elle peut correspondre soit à une hépatite aiguë, soit à une hépatite C chronique répliquative dans un contexte d'immunodépression. Les transaminases sont le plus souvent élevées ou sub-normales ;
- l'absence de détection d'ARN associée à la positivité confirmée de la sérologie correspond à une hépatite C ancienne guérie, sans qu'il soit possible de la dater. Les transaminases sont normales ;
- l'absence de détection d'ARN associée à une sérologie indéterminée correspond presque toujours à une fausse réactivité de dépistage, mais peut aussi être liée à une hépatite C ancienne guérie, dont les anticorps sont en train de diminuer, sans qu'il soit possible de trancher entre ces deux situations.

La recherche qualitative d'ARN du VHC peut également être indiquée devant une suspicion d'hépatite aiguë ou chronique sans anticorps détectables.

Remarque : quantification de l'ARN viral VHC circulant et génotypage ne sont pas recommandés lors du bilan initial, en dehors d'une décision thérapeutique.

■ Traitement des hépatites C : bilan et suivi

Les modalités du traitement

Selon les recommandations de la conférence de consensus française de février 2002, peuvent bénéficier d'un traitement les patients atteints d'une infection chronique par le VHC authentifiée par la présence d'ARN viral dans le sérum.

Les indications du traitement reposent sur l'évaluation histologique du foie, pondérée par des facteurs individuels : altération de la qualité de vie, comorbidités, manifestations extra-hépatiques. La motivation du patient et de son entourage entre aussi en ligne de compte. Ces traitements ne sont en effet pas sans effets secondaires, parfois invalidants.

Un traitement associant IFN-PEG (Interferon Pegylé) et ribavirine est proposé en priorité :

- aux patients atteints d'hépatite chronique modérée ou sévère (metavir F2 ou F3) ;
- aux patients atteints de cirrhose (metavir F4) ;
- aux patients rechuteurs ou non répondeurs à une monothérapie par Interferon ;
- aux patients transplantés pour cirrhose ou CHC liés au VHC.

Ces indications peuvent être modulées en fonction de la consommation chronique d'alcool, de l'usage de drogues, d'une coinfection VHC-VIH, ou de l'existence de troubles psychiatriques.

- Une bithérapie de 24 semaines est proposée aux patients infectés par un génotype 2 ou 3.
- Une bithérapie de 48 semaines est proposée aux patients infectés par un génotype 1, 4, 5 ou 6.
- Le traitement pourra être arrêté après 12 semaines en cas de non-réponse pour les génotypes 1.

Le traitement des patients atteints d'une hépatite chronique minime (metavir F0 ou F1) ou avec

transaminases normales n'est pas recommandé, sauf en cas de manifestations extra-hépatiques (vascularites).

Les hépatites aiguës peuvent bénéficier d'un traitement identique avec un pourcentage important de succès, sans passage à la chronicité.

Bilan pré-thérapeutique

- **Le bilan de fibrose hépatique** repose classiquement sur la ponction biopsie hépatique (PBH) et l'histologie du foie. Il n'y a pas de lien entre quantité d'ARN circulant mesurée et sévérité des lésions hépatiques constatées par l'histologie d'une PBH. Fibrose et activité nécrotico-inflammatoire peuvent également être évaluées par la mesure de marqueurs chimiques sériques indirects ou par le calcul d'index de fibrose ou d'activité. On peut citer entre autres :
 - le Fibrotest®, index de fibrose hépatique mesuré à partir des concentrations sériques de la bilirubine totale, des γ -glutamyl-transpeptidases, de l'haptoglobine, de l'apolipoprotéine A1 et de l' α -2-macroglobuline en utilisant des techniques validées ;
 - l'Actitest®, estimation de l'activité nécrotico-inflammatoire hépatique établie à partir de 6 paramètres : les cinq précédents auxquels s'ajoutent les transaminases ALAT.
 La mesure de ces index, bien corrélée à l'histologie, pourrait permettre d'éviter 50 % des biopsies hépatiques.
- **Le bilan virologique** repose sur la quantification la charge virale circulante en ARN du VHC et sur la détermination du génotype du VHC en cause.

1) Quantification de l'ARN du VHC

Elle utilise des techniques d'amplification de la cible (PCR quantitative Monitor HCV® de Roche) ou d'amplification du signal après hybridation (ADN branché ou bDNA, Versant HCV® de Bayer). Les seuils de sensibilité de ces deux réactifs sont comparables : 600 UI/ml pour la PCR, 615 UI/ml pour l'ADN branché. Les deux techniques ont été standardisées vis-à-vis d'un standard international fourni par l'OMS et les résultats sont rendus en Unités Internationales par ml (UI/ml) et directement comparables entre eux.

Cette recherche est toujours réalisée sur sérum. Comme pour la recherche qualitative, le sang doit être décanté très rapidement. La quantification est techniquement possible sur plasma, mais le résultat est différent de celui mesuré sur sérum et ne permettra pas un suivi correct.

La quantification de l'ARN du VHC est indiquée lors du bilan virologique pré-thérapeutique, associée à la détermination du génotype viral. Cette mesure permet d'évaluer le risque de bonne ou mauvaise réponse, et de disposer d'un niveau de base utile pour un suivi sous traitement. Il a été montré qu'un haut niveau de charge virale est corrélé à un risque plus important de transmission mère-enfant. Par ailleurs, une charge virale en ARN VHC supérieure à 800.000 UI/ml est considérée comme un facteur de moins bonne réponse et de rechutes plus fréquentes dans le cas du



traitement des génotypes 1 en monothérapie par l'Interferon α .

2) Sérotypage - génotypage du VHC

Le test de sérotypage détermine la spécificité des anticorps circulants. Ce test de compétition pour des antigènes spécifiques permet de déterminer le type mais pas le sous-type. Sa sensibilité n'est que d'environ 80%. Cette situation est fréquente chez l'immunodéprimé ou l'hémodyalysé mais se rencontre aussi chez l'immunocompétent. Son principal intérêt réside dans la détermination du type viral alors que la PCR est déjà négative en début de traitement.

Le test de génotypage permet de déterminer le type et le sous-type viral en cause. La détermination du sous-type n'a plus maintenant qu'un intérêt épidémiologique. Les techniques de génotypage permettent de détecter d'éventuelles co-infections par des VHC de types ou de sous-types différents. Cette situation, peu fréquente, est rencontrée chez les multi-transfusés et les toxicomanes par voie intraveineuse.

Suivi thérapeutique

La décroissance de la charge virale sous traitement est le reflet direct du succès à long terme de ce traitement, au moins pour les génotypes 1.

Une décroissance de charge virale supérieure à 2 log après 12 semaines de traitement, voire 4 semaines, est en faveur d'une réponse prolongée.

A l'inverse une diminution de moins de 2 log est en faveur d'un échec. Les génotypes 2 et 3, qui ne sont traités que 24 semaines, ne sont pas concernés par cette mesure à 12 semaines, et trop peu d'informations sont disponibles pour les génotypes 4, 5 et 6 pour permettre de leur généraliser ces constatations.

Le suivi thérapeutique d'une hépatite C traitée reposera donc pour tous les génotypes concernés sur la recherche qualitative de l'ARN du VHC à 3 mois, à la fin du traitement et à distance de l'arrêt du traitement pour affirmer l'arrêt de la réplication virale et l'efficacité en terme de réponse immédiate et de réponse prolongée.

Pour les patients infectés par un génotype 1, le suivi utilise également la mesure de la charge virale en ARN VHC à 12 semaines de traitement pour les VHC type 1, avec la possibilité d'un arrêt éventuel du traitement en cas de non réponse à 12 semaines (absence de décroissance d'au moins 2 log de la charge virale).

*Dr Jean-Dominique POVEDA
Médecin Biologiste, Laboratoire Pasteur Cerba*

Bibliographie disponible sur demande

En résumé

Analyses biologiques et Indications

Indications	Analyses	Cotation
Dépistage des Ac anti-VHC	Ac anti-VHC par EIA	B 70
Confirmation de la positivité des Ac anti-VHC sur un second prélèvement	Contrôle par EIA ou Immuno-Blot	B 100
Bilan initial après découverte d'une séropositivité	Détection qualitative de l'ARN du VHC	B 200
Bilan pré-thérapeutique	- tests hépatiques : (ALAT, phosphatases alcalines, bilirubine, taux de prothrombine) - index de fibrose hépatique (Fibrotest - Actitest) - charge virale - génotypage	B 20 pour chaque dosage 6 paramètres à la NABM + 50 μ B 300 B 400
Suivi du traitement - Durée du traitement - Efficacité du traitement	- charge virale après 12 semaines - détection qualitative de l'ARN du VHC à 6 mois, à 12 mois, à 6 mois après la fin du traitement	B 300 B 200

