

N°83 - Hépatites virales.

Stanislas Pol, Frédéric Dubois

Unité d'Hépatologie, Hôpital Necker, Paris; Service de virologie, Hôpital Bretonneau, Tours.

Objectifs

- Diagnostiquer une hépatite virale.
- Argumenter l'attitude thérapeutique et planifier le suivi du patient.

Au diagnostic clinico-biologique voire histologique des hépatites s'est substitué ces 20 dernières années un diagnostic sérologique qui, seul, permet d'affirmer la rencontre avec un virus hépatitique, son caractère récent ou ancien, résolutif ou non. Le diagnostic biologique apparaît ainsi indispensable dans le diagnostic des hépatites mais aussi dans la prise en charge thérapeutique (traitement précoce d'une hépatite aigüe, suivi du traitement d'une hépatite chronique B ou C) ou dans la définition d'une protection vaccinale (virus des hépatites A ou B) ou d'une guérison (hépatite C).

1 Diagnostic sérologique de l'hépatite A

L'isolement du VHA par culture reste du domaine de la recherche, de même que la détection de son génome par hybridation moléculaire (simple ou avec amplification génique).

L'antigène VHA peut être recherché dans les selles par radio-immunologie ou par technique immuno-enzymatique, mais le diagnostic peut être pris en défaut: détectable dans les deux semaines qui précèdent l'ictère, le VHA disparaît des selles très rapidement dès la phase d'état de l'hépatite. Sa détection peut persister dans les formes prolongées de la maladie. Il peut aussi être de nouveau excréte à l'occasion d'une rechute de la maladie.

Le diagnostic d'une infection est donc essentiellement sérologique. Dès les premiers jours de la maladie, le titre des anticorps anti-VHA totaux (IgG + IgM) est très élevé, ce qui rend impossible le diagnostic par séroconversion. Le diagnostic repose alors sur la détection des anticorps anti-VHA de classe IgM qui signe un contact récent avec le virus (Tableau 1). A distance de l'infection seuls persistent les anticorps de classe IgG.

A ce jour, la recherche des IgM anti-VHA était la sérologie clef de l'hépatite A et l'intérêt de la recherche des anticorps totaux était limité aux études épidémiologiques. Le développement du vaccin contre l'hépatite A change ces concepts. Compte tenu du coût du vaccin par rapport à celui d'une sérologie préalable, la sérologie prévaccinale peut être envisagée pour les plus de 40 ans chez lesquels la séroprévalence des anti-VHA est supérieure à 50%. Pour la sérologie pré-vaccinale, les trousse actuellement commercialisées recherchent les anticorps totaux peuvent être utilisées; le dosage d'anticorps neutralisants a aussi été mis au point pour juger de l'immunité post-vaccinale.

2 Diagnostic sérologique de l'infection par le VHB

Les tests sérologiques utilisés pour le diagnostic sérologique d'une infection par le VHB recherchent des anticorps dirigés contre les différents antigènes du VHB (anti-HBc, anti-HBe, anti-HBs) ou les éléments constitutifs du virus, antigènes viraux (AgHBs, AgHBe) ou ADN viral (ADN du VHB). Les premiers témoignent d'un contact avec le VHB, les seconds d'une infection en cours d'évolution. Un profil sérologique doit être confronté aux données cliniques et biologiques. Le vaccin contre l'hépatite B n'étant constitué que de protéines d'enveloppe du VHB contenant l'AgHBs, il est possible de distinguer une immunité vaccinale (anti-HBs isolés) d'une immunité consécutive à un contact avec le VHB (présence d'anti-HBc, associés ou non aux anti-HBs).

2.1 Système HBs

2.1.1 -AgHBs.

L'AgHBs est le marqueur sérologique essentiel à tout diagnostic d'infection par le VHB puisque sa détection atteste l'infection en cours par le VHB. Les tests actuellement commercialisés utilisent des anticorps monoclonaux reconnaissant l'épitope "a" du gène S commun à la totalité des souches de VHB.

L'AgHBs est le premier marqueur à apparaître au cours d'une infection par le VHB, décelable deux à quatre semaines avant la phase d'état de la maladie et détectable en moyenne quatre à six semaines. La disparition de l'AgHBs signe l'évolution favorable de l'infection et sa persistance l'évolution chronique de l'infection par le VHB.

2.1.2 Anticorps anti-HBs.

AgHBs et anti-HBs sont mutuellement exclusifs, l'anti-HBs n'étant détectable qu'après la disparition de l'AgHBs ; dans de rares cas, il est possible de les détecter conjointement au cours d'une hépatite aiguë ou chronique.

Associés aux anti-HBc, les anti-HBs sont le témoin d'un contact avec le VHB. En leur absence la détection d'anti-HBs est, en règle générale, témoin d'une immunité protectrice conférée par la vaccination.

La sérologie anti-HBs a peu d'intérêt dans le cadre du diagnostic sérologique d'une hépatite B. Toutefois dans le cas d'une sérologie AgHBs négatif /anti-HBc faiblement positif, la détection d'anti-HBs conforte le résultat de la sérologie anti-HBc et permet d'affirmer un contact ancien et résolutif avec le VHB. Le plus souvent, cette sérologie est réalisée pour contrôler l'immunisation conférée par une vaccination.

2.2 Système HBc

2.2.1 AgHBc.

La recherche de l'AgHBc sérique n'est pas pratiquée; en revanche il peut être recherché par immuno-histochimie sur une biopsie hépatique et témoigne alors d'une infection active.

2.2.2 Anticorps anti-HBc.

Les anti-HBc, dirigés contre la capsid du VHB, sont des anticorps d'apparition très précoce. Présents à la phase d'état de l'infection, ils restent détectables des années après la guérison voire définitivement. Le caractère durable de l'anti-HBc en fait le marqueur de choix pour

témoigner d'un contact avec le VHB.

Sérologie associant une positivité des anti-HBc et de l'AgHBs

Un tel profil sérologique témoigne d'une infection par le VHB en cours d'évolution.

La recherche d'anti-HBc de classe IgM permet de distinguer une infection récente d'une infection chronique. La négativité des IgM anti-HBc affirme une infection chronique alors qu'en règle générale une positivité des IgM anti-HBc correspond à une infection aiguë (Tableaux 1 et 2).

Sérologie anti-HBc positive associée à une sérologie AgHBs négative

Sauf cas particulier, ce type de sérologie correspond à une infection ayant évolué favorablement, que la sérologie anti-HBs soit positive ou non.

Devant des anti-HBc isolés, il convient de distinguer une trace sérologique témoignant d'un contact ancien, d'une infection récente au stade dit de la fenêtre sérologique entre disparition de l'AgHBs et séroconversion anti-HBs. La recherche des IgM anti-HBc, qui s'impose d'autant plus dans un contexte d'hépatite aiguë, permet de trancher entre les deux hypothèses. En dehors d'un contexte d'hépatite aiguë, surtout s'il s'agit d'une sérologie prévaccinale, un résultat anti-HBc isolé doit être interprété avec prudence, car les tests anti-HBc sont connus pour donner parfois des résultats faussement positifs. En fait si le test est nettement positif il peut être conclu à une trace sérologique témoin d'un contact ancien: la vaccination est alors inutile. En revanche une faible positivité (voisine du seuil de positivité du test) peut correspondre à une trace sérologique ou à une réaction non spécifique sans qu'il soit possible de trancher entre les deux hypothèses: dans le doute, une vaccination doit alors être conseillée. Dans un contexte d'hépatite aiguë, ce profil sérologique peut être la conséquence d'une disparition rapide de l'AgHBs. Ce cas de figure est fréquent à l'occasion d'hépatite fulminante .

2.3 Système HBe

2.3.1 AgHBe.

En pratique courante l'AgHBe est utilisé comme marqueur de réplication du VHB. Cependant l'AgHBe n'étant pas directement associé au virion, il ne constitue qu'un marqueur de réplication indirect, présent dans environ 80% des cas de détection de l'ADN du VHB.

Une sérologie AgHBs positive AgHBe négative peut correspondre à une infection par le VHB à un stade de faible réplication, la recherche de l'ADN du VHB est alors négative. Si la recherche de l'ADN du VHB est positive il peut s'agir d'une infection par un virus mutant (mutant pré-C) qui malgré une réplication active ne produit pas d'AgHBe du fait d'une mutation induisant un signal d'arrêt de lecture sur le gène pré-C, sans gêner pour autant la lecture du gène C qui code pour la capside du virus. L'émergence de ce type de mutant est conditionnée par l'ancienneté de l'infection. La survenue de rechute à l'arrêt du traitement interféron semble être en relation avec l'existence de virus mutants chez le sujet infecté.

2.3.2 Anticorps anti-HBe

Comme pour le système HBs, les anti-HBe apparaissent après disparition de l'AgHBe. La recherche des anti-HBe a peu d'intérêt. En cas de positivité de l'ADN du VHB, ils correspondent à une infection par un mutant pré-C.

2.4 ADN du VHB

La quantité d'AgHBs sérique ne préjugant pas de la proportion de virions complets par rapport aux particules défectives d'enveloppe et l'AgHBe n'étant qu'un marqueur par défaut, la recherche de l'ADN du VHB constitue le meilleur marqueur de présence de virion et donc d'infectiosité. Les tests recherchant l'ADN du VHB par hybridation moléculaire en milieu liquide sont utilisés pour le bilan préthérapeutique et le suivi de l'efficacité de traitements antiviraux chez des patients traités. En revanche la recherche de l'ADN du VHB par PCR n'a pas actuellement d'indication en pratique courante mais sa standardisation en cours de développement en fera certainement un test utile pour les suivis thérapeutiques, notamment en terme de pronostic d'efficacité, de risque de réactivation.

3 Diagnostic sérologique de l'hépatite C

Environ 30 pour cent des infections par le VHC évoluent vers la guérison. Parmi les infections chroniques, la plupart s'accompagne de lésions hépatiques minimales, d'autres évoluent vers des formes plus sévères avec nécrose inflammatoire et fibrose. Le risque d'évolution vers la cirrhose est de 10 à 20% et celui d'hépatocarcinome de 3 à 5%/an alors que la cirrhose est constituée.

Le diagnostic sérologique d'une hépatite C permet de répondre aux questions suivantes :
y a-t-il eu un contact avec le VHC ? L'infection est-elle actuellement active ?

3.1 Circonstances diagnostiques

La recherche d'une hépatite C peut être motivée par l'existence de signes cliniques (souvent limités à une asthénie) associés à une élévation de l'activité sérique de l'ALAT. Elle peut être suspectée en cas d'exposition sérieuse au risque, principalement usage de drogues ou antécédent de transfusion avant 1990.

Une hépatite aiguë peut être évoquée en cas d'exposition récente au risque. Le jeune toxicomane dont les premiers échanges de seringues remontent à moins d'un an constitue actuellement l'exemple type.

Le diagnostic peut être évoqué devant une sérologie systématique à l'occasion d'un don de sang, d'un don de lait, d'un accident d'exposition au sang, d'un bilan pré-transfusionnel ou préopératoire, un dépistage orienté par un facteur de risque, ou l'exploration d'une discrète élévation de l'activité sérique de l'ALAT mise en évidence à l'occasion d'un bilan biologique systématique.

3.2 Outils du diagnostic

Différents outils diagnostiques permettent de témoigner d'une infection par le VHC. Les premiers signent le contact avec le virus : tests anti-VHC (EIA ou immunoblot). Les seconds affirment sa présence: détection qualitative ou quantitative de l'ARN du VHC par amplification génique (PCR ou bDNA). Les résultats obtenus doivent être confrontés à l'interrogatoire (facteurs de risque, notion de contagion), aux données cliniques (souvent pauvres) et biologiques (élévation de l'activité sérique de l'ALAT). La recherche de l'ARN du VHC par PCR est le marqueur clé du bilan pré et post-thérapeutique. Si la PCR est positive le sujet est éligible pour un traitement alors que le critère virologique de réponse au traitement repose sur l'absence de détection de l'ARN du VHC par PCR. Le génotype et la charge virale constituent des facteurs pronostiques de réponse au traitement.

3.3 Démarche diagnostique

Qu'il existe ou non un contexte clinique évocateur, la recherche des anti-VHC par un test EIA est l'examen sérologique à pratiquer en première intention. En cas de résultat positif ou douteux, la nomenclature des actes biologiques (J.O. du 12 Août 1997) préconise un contrôle sur un second prélèvement avec un réactif différent du premier. Il est précisé qu'un test '*EIA ou non*' peut être utilisé pour ce contrôle sérologique.

Une fois établie la séropositivité anti-VHC, un contact avec le VHC peut être affirmé mais seule la recherche de l'ARN du VHC par PCR permet d'affirmer l'existence d'une virémie (Tableau 2). Une PCR négative écarte l'existence d'une virémie.

3.3.1 Diagnostic sérologique d'un début d'infection

Le diagnostic sérologique d'un début d'infection repose sur la séroconversion anti-VHC sachant que l'ARN du VHC est détectable par PCR (12^e jour du contage) avant l'apparition des anticorps anti-VHC (environ 80 jours). Devant une hépatite aiguë, en cas de sérologie anti-VHC négative, la recherche de l'ARN du VHC s'impose. En cas de positivité, le diagnostic d'hépatite aiguë C est posé. En revanche si les anti-VHC sont d'emblée positifs avec le test EIA l'existence d'une PCR positive ne permet pas de distinguer une infection aiguë d'une infection chronique. En l'absence de test IgM fiable, le diagnostic de contact récent pourrait être possible en utilisant un test immunoblot. Les premiers anticorps décelables sont les anticorps dirigés contre la capsidite 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 de nouvelles réactivités.

3.3.2 Cas particulier des sujets immunodéprimés

Chez ces sujets, que l'immunodépression soit due à une infection par le VIH, une agammaglobulinémie ou encore un traitement immunosuppresseur suite à une greffe, une sérologie anti-VHC EIA-négatif ne permet pas d'écartier totalement une hépatite C. La recherche de l'ARN du VHC par PCR est d'autant plus justifiée qu'il existe un contexte d'hépatite, aiguë ou chronique.

3.3.3 Surveillance d'une infection par le VHC

Une fois la sérologie anti-VHC contrôlée et la recherche de l'ARN du VHC réalisée selon les indications préconisées par la nomenclature des actes biologiques, se pose la question de la surveillance et du traitement de l'hépatite C. Il n'y a pas d'intérêt à une surveillance sérologique. Par contre, en cas d'indication thérapeutique à la combinaison ribavirine/interféron- α , il est justifié: 1. d'affirmer l'infection: le critère virologique d'éligibilité au traitement repose sur la détection qualitative de l'ARN du VHC par PCR; 2. d'établir le génotype (ou sérotype) du VHC et la virémie pré-thérapeutique qui vont moduler la conduite du traitement (durée voire posologie): une forte virémie (> 2 millions de génomes/ml) et un génotype 1 sont associés à une mauvaise réponse thérapeutique.

La surveillance thérapeutique repose sur le dosage régulier de l'ALAT et la recherche de l'ARN du VHC. Le traitement sera interrompu en cas de persistance de l'ARN du VHC à 6 mois. En cas de négativité, le traitement est poursuivi jusqu'à son terme. En fin de traitement et après celui-ci, l'activité sérique de l'ALAT doit être dosée et l'ARN du VHC recherché 6 et 12 mois après l'arrêt. Une réponse prolongée est considérée comme une virémie négative et des ALT normales six mois après l'arrêt du traitement. En cas de rechute, la PCR est de

nouveau positive.

En conclusion, les outils sérologiques permettent au clinicien de progresser dans la démarche diagnostique, de conduire un traitement antiviral si la biopsie hépatique le justifie et d'en évaluer l'efficacité.