

Intérêt de la charge virale au cours de l'hépatite C

A. Pivert, F. Lunel

Laboratoire de Bactériologie, Virologie, Hygiène Hospitalière, CHU Angers, 4 rue Larrey, 49933 Angers Cedex 9.

Correspondance : F. LUNEL, voir adresse ci-dessus.

Résumé/Abstract

Intérêt de la charge virale au cours de l'hépatite C

A. Pivert, F. Lunel

Cette revue aborde l'intérêt des techniques permettant de mesurer la charge virale au cours des infections par le virus de l'hépatite C dans la prise en charge des patients. Le virus de l'hépatite C appartient à la famille des *Flaviviridae*. Il s'agit d'un virus à ARN dont la particularité essentielle est sa grande variabilité. En effet, outre l'existence de 11 génotypes différents et plus de 100 sous-types, chez un même individu il existe des populations virales différentes appelées quasi-espèces. Les tests de détection de l'ARN du VHC reposent en général sur des techniques de PCR ou des techniques de NASBA ou TMA (Nucleic Acid Sequence-Based Amplification ou Transcription-Mediated Amplification). Les techniques de quantification comportent des techniques d'amplification de signal et des techniques de PCR quantitative. Récemment, la mise au point de techniques de PCR en temps réel a permis une détection et une quantification simultanée plus sensible de l'ARN du VHC.

La détermination de la charge virale du VHC n'a pas d'intérêt dans le diagnostic des infections par le VHC. En revanche, elle prend toute son importance dans le bilan pré-thérapeutique et dans le suivi des patients atteints d'hépatite C chronique traités par bithérapie interféron-ribavirine. Le traitement actuel de l'hépatite C repose en effet sur l'association de l'interféron pégylé et de la ribavirine. Avec ce traitement, plus de 50 % des patients ont une réponse virologique soutenue confirmée par une absence de détection de l'ARN du VHC six mois après l'arrêt du traitement. La détermination de la charge virale pré-thérapeutique est utile essentiellement pour prédire la réponse à long terme. En effet, les patients ayant une charge virale élevée sont plus résistants au traitement. La charge virale revêt tout son intérêt dans le suivi virologique des patients traités. Les recommandations actuelles sont de mesurer la charge virale après 3 mois de traitement. Les patients qui ont une chute de la charge virale de moins de 2 log au bout de 3 mois de traitement ont très peu de chances de répondre au traitement. C'est pourquoi il est recommandé, dans certains cas, d'arrêter le traitement chez les patients n'ayant pas diminué leur charge virale de façon significative après 3 mois de bithérapie.

Des études plus récentes montrent que la mesure de la charge virale réalisée dès le 1^{er} mois permet de prédire la réponse plus précocement ; elle est également utile dans l'évaluation du risque de transmission après un accident d'exposition au sang, les risques de transmission étant plus importants lorsque la charge virale du patient-source est plus élevée.

Mots-clés : Hépatite C, génotypes, charge virale, détection de l'ARN par PCR, NASBA, TMA, amplification de signal.

Importance of viral load in hepatitis C

A. Pivert, F. Lunel

This review analyses the usefulness of HCV RNA measurements (viral load) in patients with chronic hepatitis C. HCV infects 2-3% of the world population. It is a RNA virus, classified into at least 11 genotypes and 100 subtypes. In an HCV infected patient, HCV exists as a mixture of genetically distinct viral variants or quasi-species. Several commercial assays are able to quantify HCV RNA including branched DNA technology (signal amplification, Bayer Diagnostics®), PCR (Roche Diagnostics®), NASBA (Biomérieux®), TMA (Chiron®) and more recently real time PCR. Measurement of HCV viral load is useful in different situations. Treatment of chronic hepatitis C using Interferon-based regimens have been increasingly effective during the

Introduction

Depuis la découverte du virus de l'hépatite C (VHC) en 1989, de nombreux progrès ont été faits à la fois dans les aspects fondamentaux, dans les techniques diagnostiques et dans les approches thérapeutiques. Le développement des méthodes de biologie moléculaire, qui ont réellement pris leur essor à partir des années 90, permet aujourd'hui une meilleure prise en charge des patients atteints d'hépatites C chroniques. L'objet de cet article est de faire le point sur l'intérêt de la mesure de la charge virale dans le bilan et dans le suivi virologique des malades sous traitement infectés par le VHC.

Rappel sur le virus de l'hépatite C

Le virus de l'hépatite C appartient à la famille des *Flaviviridae* et constitue à lui seul un nouveau genre (*Hepacivirus*). Le génome du virus est constitué d'un simple brin d'ARN positif et composé de trois régions délimitées : 2 régions non codantes aux extrémités 5' et 3', et une région codante constituée d'un cadre de lecture ouvert. Après la traduction du génome, la polyprotéine précurseur formée donne lieu aux protéines structurales du virion (capside C, enveloppe E1 et E2, p7) et aux protéines non structurales nécessaires à la réplication (NS2 à NS5) [1]. Le décalage du cadre ouvert de lecture est traduit en une petite protéine F dont la fonction n'est pas connue [2].

La particularité essentielle du VHC est la grande variabilité de son génome. En effet, outre l'existence de 11 génotypes différents et de plus de 100 sous-types [3], définis par des homologies de séquences

last decade, with about half of the patients who will eradicate the virus, identified by a sustained virological response or SVR using the Pegylated-Interferon (PEG-IFN) combined to Ribavirin. Today, RNA detection and quantification are the only systems for pre-therapeutic and therapeutic follow-up of HCV-infected persons undergoing treatment. Measures of HCV RNA before and at 12 weeks of treatment are used to determine early decrease of viral load during treatment. A 2 log HCV RNA variation is considered as a reference to manage treatment for HCV-infected persons, and patients with no significant decrease of viral load may stop treatment. Recent studies have showed that earlier viral load measurement (after 4 weeks of treatment) is also able to predict the long term response. Viral load measurement is also used to assess the infectiveness, ie. after blood exposure or to evaluate the risk of HCV transmission from a HCV infected mother to her baby.

Key words: Hepatitis C, genotypes, viral load, RNA detection, PCR, NASBA, TMA, amplification of signal.

Antibiotiques 2006 ; 8 : 79-84

© Masson, Paris, 2006

comprises entre 65 % et 95 %, il existe une grande diversité de variants dont les séquences comportent au moins 95 % d'homologie [4]. Ces variants peuvent expliquer en partie la capacité du virus à résister aux traitements actuels et la difficulté de mise au point d'un vaccin efficace [5].

Rappel sur les techniques de diagnostic des infections par le VHC au laboratoire : amélioration de la prise en charge

Le diagnostic de l'hépatite peut utiliser des techniques de mise en évidence directe ou indirecte de l'infection par le VHC. L'observation de la réponse immunitaire contre le virus, c'est à dire la mise en évidence des anticorps anti-VHC, est réalisée par des tests indirects. Les tests directs permettent de confirmer l'infection par l'identification des constituants du virus circulant, soit la capsid et l'ARN viral essentiellement.

DIAGNOSTIC INDIRECT

Le test de dépistage des anticorps anti-VHC

Les tests de dépistage sont fondés sur des techniques immuno-enzymatiques (ELISA). La sensibilité et la spécificité des tests de troisième génération utilisés aujourd'hui sont excellentes [6]. Il existe cependant des réactions faussement positives ou faussement négatives, en particulier chez les malades immunodéprimés ou dans la phase de fenêtre sérologique de primo-infection par le VHC [7].

Les tests de confirmation utilisent des supports solides comme des bandelettes

où sont fixées les protéines virales (immunoblot). Ils permettent de confirmer le dépistage de l'infection en différenciant la réactivité des anticorps vis-à-vis des différentes protéines virales. Ils apportent des éléments de confirmation notamment dans les cas de primo-infection, d'infection récente aiguë ou lorsque les résultats des techniques de dépistage sont positifs ou douteux.

On rappellera que toute sérologie trouvée positive ou douteuse nécessite réglementairement de réaliser un 2^e test (ELISA ou immunoblot) sur un 2^e prélèvement [Nomenclature du J.O. du 12/08/1997].

DIAGNOSTIC DIRECT

Détection de l'antigène de capsid du VHC

En 2003, une première firme (Ortho Clinical Diagnostics) a mis au point un test capable de détecter et de quantifier l'antigène de capsid du VHC total dans le sérum (Trak CTM Assay) [8, 9]. Malheureusement, ce test, intéressant car très bien corrélé à la charge virale, n'est plus commercialisé en Europe et aux États-Unis.

Récemment, d'autres laboratoires (Abbott Diagnostics, Bio Rad) ont développé des tests de dépistage qui permettent la détection combinée des anticorps anti-VHC et de l'antigène de capsid du VHC (seul le test de Bio rad est commercialisé pour l'instant : Monalisa HCV Ag/Ab ULTRA). L'utilisation de ces tests reste encore limitée puisque leur commercialisation est très récente, mais leur intérêt n'est pas négligeable. En effet, la détection simultanée de l'antigène de capsid, plus précoce, et des anticorps, permet de s'affranchir des résultats faussement

négatifs pouvant être obtenus durant la fenêtre sérologique par les tests classiques (*figure 1*) [10, 11]. Ainsi, la sensibilité de la sérologie est améliorée, en particulier dans le cadre des primo-infections ou des immunodépressions.

Techniques de détection qualitative de l'ARN du VHC

Les tests de détection de l'ARN du VHC reposent sur la technique de PCR (Polymerase Chain Reaction). Cette technique a l'avantage d'amplifier la cible de façon proportionnelle à la quantité initiale. Ainsi, les techniques disponibles sont très sensibles, et permettent actuellement de détecter jusqu'à 100 copies de génome par mL (50 UI/mL). Récemment, la mise au point de techniques de PCR en « temps réel » permet une détection encore plus sensible (jusqu'à 12 UI/mL) et surtout une quantification simultanée.

Méthodes de quantification de l'ARN du VHC ou estimation de la charge virale

La quantification de l'ARN viral dans le sérum reflète le niveau de la réplication virale dans l'organisme. Deux types de techniques sont disponibles sous forme de trousse standardisées et commercialisées : les techniques d'amplification du signal par les ADN branchés et les techniques d'amplification de la cible par PCR ou amplification isothermique.

— La technique des ADN branchés repose sur la capture de l'ARN viral entre un couple de sondes. La première sonde utilisée est appelée « sonde cible » : elle est spécifique de la sonde fixée sur le support solide et de l'ARN viral. La deuxième sonde utilisée dans le même temps est une « sonde capture » spécifique de l'ARN viral et de l'« ADN branché ». L'ARN recherché est alors capturé entre ces deux sondes. Les étapes suivantes sont des successions d'hybridations de sondes et de lavages, qui aboutissent, après addition du substrat, à une lecture par chimiluminescence. L'ADN branché a la capacité de fixer plusieurs sondes de marquage qui elles même fixent plusieurs molécules de substrat. Chaque molécule d'ARN émet donc un signal très amplifié qui devient détectable à partir de 600 UI/mL de sérum. Cette méthode très différente de l'amplification génique présente une excellente

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/3396178>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/3396178>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)