

Diagnostic et test du virus de l'hépatite C*

Mel Krajden, MD, FRCPC

La mise au point de tests sérologiques et de tests d'acide nucléique (TAN) a révolutionné le diagnostic du virus de l'hépatite C (VHC). Même si les dosages immuno-enzymatiques (EIA) de troisième génération sont très efficaces comme tests dans des populations où la prévalence de la maladie est élevée, des tests de confirmation sont toujours nécessaires lorsque la prévalence du VHC est faible, pour exclure les faux résultats positifs. Les limites des EIA de troisième génération comprennent le délai relativement long entre le moment d'une infection aiguë et la détection de la séroconversion (en général au moins 5 à 6 semaines), le retard de la séroconversion (plusieurs mois ou des années) chez les sujets immunodéprimés et l'incapacité pour les tests sérologiques de confirmer le caractère actif d'une infection par le VHC. Par contre, les TAN permettent de détecter directement la présence d'ARN du VHC dans le sérum, le plasma ou des tissus, et donc de confirmer une infection active et de ramener à 1 ou 2 semaines le délai entre une infection et la détection du VHC. Les TAN disponibles sur le marché sont maintenant très sensibles, spécifiques et reproductibles et ont largement remplacé les tests par amplification d'acide nucléique, artisanaux et peu fiables. Parmi les TAN commerciaux, les tests qualitatifs sont généralement plus sensibles que les tests quantitatifs et constituent donc la méthode de choix pour confirmer une infection active. Étant donné l'efficacité de la bithérapie interféron-ribavirine et des nouveaux agents antiviral en cours de mise au point, l'hépatite C pourrait devenir curable, ce qui aura probablement des effets dans l'avenir sur la transmission de la maladie. Comme les coûts du traitement sont actuellement très élevés, il y a un besoin manifeste d'évaluer l'utilité de TAN quantitatifs et d'étudier plus à fond le rôle de la détermination du génotype du VHC afin d'optimiser le traitement. Par conséquent, dans un avenir prévisible, une combinaison de tests sérologiques et de TAN demeurera nécessaire pour un diagnostic et un suivi du VHC à un coût raisonnable.

La conduite à tenir en cas d'infection par le virus de l'hépatite C (VHC), tant du point de vue de la santé publique que des soins cliniques, dépend d'un diagnostic exact en laboratoire. Malheureusement, les cliniciens et les responsables de la santé publique sont confrontés à un ensemble déroutant de tests de dépistage sérologiques et d'acide nucléique. Cet article présente les points forts et les points faibles des tests diagnostiques disponibles et montre comment une combinaison de tests sérologiques et de tests d'acide nucléique (TAN) est maintenant nécessaire pour réaliser un diagnostic exact et un suivi antiviral précis du VHC.

Détection des anticorps anti-VHC par dosage immuno-enzymatique (EIA)

Pour poser un diagnostic d'infection par le VHC, on mesure généralement la

réponse immunitaire à l'infection en détectant par dosage immuno-enzymatique (EIA pour *enzyme immunoassay*) la présence d'anticorps anti-VHC dans le sérum ou le plasma. Les EIA modernes font appel à des antigènes viraux recombinants ou synthétiques pour capturer dans des cupules de microplaque ou des billes de microparticules des anticorps anti-VHC circulants. Ces anticorps sont ensuite détectés à l'aide d'anti-IgG marqués par des enzymes qui catalysent la transformation de substrats afin de produire de la couleur ou de la lumière. On compare les signaux ainsi produits à des contrôles. L'intensité des signaux est généralement proportionnelle à la quantité d'anticorps anti-VHC présents dans l'échantillon.¹

Sensibilité et spécificité des EIA du VHC

Les EIA actuels de troisième génération sont beaucoup plus sensibles et spécifiques que les anciens dosages de première ou de deuxième génération.^{2,3} Cependant, leur sensibilité dépend encore fortement de l'état clinique de la population testée. Chez des personnes non immunodéprimées qui

ont une infection chronique, la sensibilité des EIA est de l'ordre de 97 à 99 %.^{3,4} Par contre, chez des personnes non immunodéprimées qui ont une infection aiguë, la sensibilité des EIA est beaucoup moindre. Par exemple, le test d'anticorps est positif à l'apparition des symptômes chez seulement 50 à 70 % des sujets qui ont une infection aiguë,⁵ puisqu'il faut environ 5 à 6 semaines après une infection aiguë par le VHC pour produire une quantité détectable d'anticorps anti-VHC. La figure 1 illustre le temps approximatif qui s'écoule entre le moment d'une infection aiguë et celui de la détection par EIA de différentes générations et par TAN chez des sujets non immunodéprimés. Comme le montre la figure 1, les TAN, ainsi qu'un nouveau test d'antigène du VHC en cours de mise au point, peuvent réduire à 1 ou 2 semaines la période de temps entre l'infection et la détection. Par contre, chez des individus immunodéprimés, une réponse immunitaire peut être détectable seulement plusieurs mois ou années après le moment de l'infection, ou même ne jamais se produire.⁶⁻⁸ Pour ces individus,

Correspondance : Dr Mel Krajden, Directeur adjoint, BC Centre for Disease Control, Laboratory Services, 655 W 12th Ave., Vancouver, BC, V5Z 4R4, Tél. : 604-660-6044, Téléc. : 604-660-6073, Courriel : mel.krajden@bccdc.hnet.bc.ca

* Cet article a été traduit par Benoît Thouin de Tetracomm Inc.

un TAN (ou un test d'antigène du VHC s'il devient disponible dans le commerce) peut être nécessaire pour diagnostiquer une infection avant la séroconversion (tableau I).⁶⁻⁸

La spécificité des EIA de troisième génération dépend elle aussi de la prévalence de l'infection dans la population étudiée. Chez les sujets qui montrent des signes cliniques d'infection par le VHC – tests anormaux de la fonction hépatique en l'absence d'autres causes de maladie du foie – les dosages de troisième génération sont spécifiques dans une proportion de 95 à 98 %.^{3,4} Par contre, dans une population, par exemple celle des donneurs de sang, où la prévalence de l'infection par le VHC est faible, la spécificité de ces dosages est de 50 à 60 %.^{2,4,9} Par conséquent, dans les populations où la prévalence de l'infection est faible, il faut un EIA supplémentaire, une immunoempreinte ou un TAN pour dépister correctement les personnes infectées.

Malgré la spécificité relativement peu élevée des EIA anti-VHC chez les donneurs de sang, qui présentent un faible risque d'infection, le dépistage sérologique est très efficace et a pratiquement éliminé les infections post-transfusionnelles par le VHC.¹⁰ Cela est dû à la forte corrélation entre la présence d'anticorps anti-VHC et la répllication active ou le pouvoir infectant du virus, et aussi au fait que la plupart des infections (de 50 à 85 %) deviennent chroniques en l'absence d'intervention thérapeutique.¹¹⁻¹⁶

Dosages du VHC par immunoempreinte

Les immunoempreintes ont été mises au point à titre de tests supplémentaires ou de confirmation, afin d'accroître la spécificité des EIA du VHC. Elles consistent en des protéines recombinantes ou synthétiques du VHC placées sur des bandes de plastique que l'on expose au sérum du patient. Les anticorps anti-VHC d'un sujet réellement positif se lient spécifiquement aux antigènes du VHC présents sur la bande et produisent une réaction colorée. Les bandes de plastique peuvent également porter des antigènes non viraux qui peuvent s'exprimer au cours du processus de synthèse conçu pour que les antigènes capturent les anticorps anti-VHC dans l'EIA. L'inclusion de ces antigènes non viraux dans l'immunoempreinte permet de contrôler de faux résultats

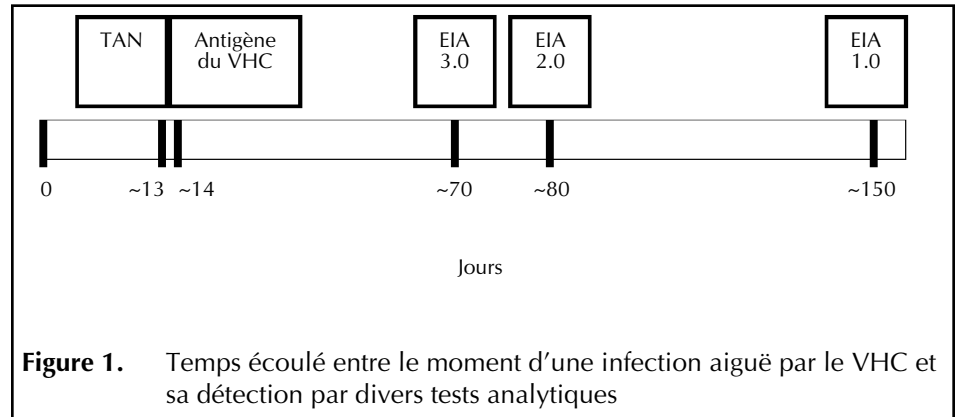


Figure 1. Temps écoulé entre le moment d'une infection aiguë par le VHC et sa détection par divers tests analytiques

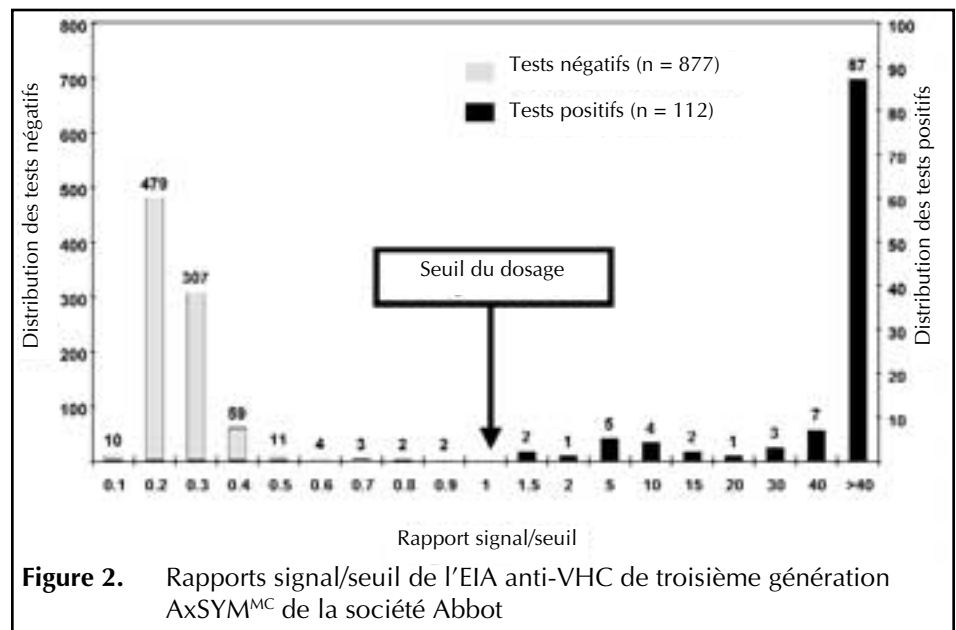


Figure 2. Rapports signal/seuil de l'EIA anti-VHC de troisième génération AxSYM^{MC} de la société Abbott

positifs de l'EIA, étant donné la réactivité des anticorps à ces antigènes non viraux. Selon le nombre d'antigènes spécifiques du VHC auxquels les anticorps de l'échantillon réagissent sur l'immunoempreinte, les échantillons d'EIA sont déclarés positifs, négatifs ou indéterminés relativement aux anticorps anti-VHC.^{3,17-20}

Même si des dosages par immunoempreinte sont toujours disponibles – par exemple le dosage par immunoempreinte recombinante de troisième génération, ou dosage par immunoempreinte sur bande (SIA pour *Strip Immunoblot Assay*), (RIBA^{MC}-3, de Chiron), INNO^{MC}-LIA Ab III (d'Innogenetics, NV), DECISCAN^{MC} HCV (de Sanofi Pasteur) et LiaTek^{MD} HCV (d'Organon) – leur utilité diagnostique en clinique est limitée à cause des progrès des EIA et TAN décrits dans la suite de cet article.

La figure 2 illustre les signaux d'EIA produits par des sujets négatifs et positifs pour ce qui est des anticorps anti-VHC (n=989) testés au *British Columbia Centre for Disease Control* (BCCDC) avec l'EIA du VHC de troisième génération Abbott AxSYM^{MC} (de la société Abbott). Même si la plupart des échantillons sont fortement positifs ou clairement négatifs d'après l'intensité du signal produit, un nombre important d'échantillons présentent un signal faible au-dessus du seuil du dosage. Sur environ 70 000 échantillons cliniques testés chaque année au BCCDC, de 8 à 10 % présentent un certain degré de réactivité aux anticorps lors du test initial par l'EIA de troisième génération AxSYM^{MC}. La majorité d'entre eux (de 82 à 85 %) donnent des signaux fortement positifs (typiquement au moins 2 à 3 fois le seuil du dosage), et de 15 à 18 % donnent des signaux faibles.

TABLEAU I

Test	Commentaires
Dosage immuno-enzymatique (EIA) de troisième génération d'anticorps anti-VHC	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Test de dépistage très efficace. ➤ Dans les populations où la prévalence du VHC est élevée, sensibilité > 97 % et spécificité > 95 %. ➤ Dans les populations où la prévalence du VHC est faible (p. ex. donneurs de sang), sensibilité > 97 %, spécificité de 50 à 60 %. Il faut donc un test de confirmation. ➤ En cas d'infection aiguë, la sensibilité est d'environ 50 à 70 %, car il faut au moins 5 à 6 semaines avant de pouvoir détecter la séroconversion. Les taux d'anticorps peuvent être dans un premier temps insuffisants pour permettre une confirmation par immunoempreinte. Il faut recourir à un TAN pour confirmer, le cas échéant, une infection aiguë. ➤ Le délai de séroconversion peut être prolongé (mois ou années) chez les personnes immunodéprimées. ➤ La présence d'anticorps ne confirme pas à elle seule une infection active. Cependant, de 85 à 95 % des sujets fortement positifs pour un EIA sont positifs pour un TAN.
Dosage par immunoempreinte	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Permet de confirmer la présence d'anticorps anti-VHC spécifiques. ➤ Généralement moins sensible que les EIA et donc médiocre pour confirmer une infection aiguë ou une infection chez des personnes immunodéprimées. ➤ Ne permet pas de déterminer si une infection est active, et est donc d'une utilité diagnostique limitée. Il faut recourir à un TAN pour confirmer, le cas échéant, une infection aiguë.
Test d'acide nucléique (TAN) qualitatif du VHC	<ul style="list-style-type: none"> ➤ TAN le plus sensible, qui donne une réponse oui ou non. ➤ Sensibilité de 95 à 99 %, spécificité de 98 à 99 %, mais exige des procédures de laboratoire méticuleuses. ➤ Confirme une infection active et une réponse au traitement. ➤ Positif de 1 à 2 semaines après une infection par le VHC. ➤ Permet de dépister une transmission de la mère à son bébé, car les anticorps maternels transmis de façon passive peuvent être détectés pendant au moins 12 à 18 mois.
TAN quantitatif du VHC	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Peut être utile pour prédire le résultat d'une bithérapie interféron-ribavirine, mais sa valeur prédictive doit être validée à l'aide de tests commerciaux normalisés. ➤ Permet de faire un suivi du traitement en détectant rapidement les patients qui ne répondent pas au traitement. D'autres études sont nécessaires pour documenter l'utilité clinique des tests de charge virale.
Test de détermination du génotype	<ul style="list-style-type: none"> ➤ En général moins sensible qu'un test qualitatif. ➤ Permet de distinguer les principaux génotypes du VHC à partir de leurs différentes séquences. ➤ Les VHC de génotype 1 sont généralement plus difficiles à traiter, mais on ne sait pas de façon certaine s'il y a un lien avec la gravité clinique de la maladie. ➤ Les méthodes commerciales les plus courantes de détermination du génotype font intervenir une hybridation spécifique du produit de la réaction en chaîne de la polymérase du test AMPLICOR avec des sondes propres à un génotype immobilisées – test Line Probe Assay (LiPA) d'hybridation inverse INNO-LIPA, d'INNOGENETICS.
Test de détection d'antigènes du VHC	<ul style="list-style-type: none"> ➤ En cours de mise au point. ➤ Permet de détecter une infection au bout d'environ 2 semaines. ➤ Peut être utile pour des fins de confirmation sérologique ou pour suivre la réponse au traitement.

Les échantillons fortement positifs pour un EIA de troisième génération sont généralement positifs pour le dosage par immunoempreinte. Lorsqu'un échantillon fortement positif pour l'EIA du VHC est confirmé par l'EIA d'un second fabricant qui fait appel à des protéines recombinantes ou synthétiques différentes, il est positif dans 99 % des cas pour le dosage par immunoempreinte.²⁰⁻²³ Par conséquent, il n'est en général pas nécessaire de faire un dosage par immunoempreinte pour confirmer la réactivité d'échantillons fortement positifs pour l'EIA.

Dans le cas des sujets qui présentent un niveau très élevé d'anticorps anti-VHC, la principale question clinique est de savoir si l'infection par le VHC est toujours active ou si elle a été combattue avec succès mais que des anticorps sont toujours présents. De 95 à 99 % environ des individus qui présentent un taux sérique anormal de transaminases mais aucune autre cause de maladie du foie, et pour lesquels un EIA d'anticorps anti-VHC de troisième génération donne un résultat positif, se voient confirmer par un TAN qu'ils sont active-

ment infectés.^{3,4} Malheureusement, de 25 à 40 % des personnes infectées par le VHC ont un taux sérique de transaminases constamment élevé. Chez ces individus, la détection de l'ARN du VHC par TAN ou par test de l'antigène du VHC (s'il est disponible) constitue, mis à part une biopsie du foie, le seul moyen de confirmer une infection active (voir plus loin la section sur les TAN).

Alors que les immunoempreintes améliorent clairement la spécificité des EIA en confirmant la présence d'une réactivité spécifique anti-VHC, leur limite la plus importante vient de ce qu'ils sont en général moins sensibles que les EIA. Ce manque de sensibilité prend de l'importance lorsqu'il s'agit de déterminer si une faible réactivité ou un résultat d'EIA indéterminé est dû à la présence d'une petite quantité d'anticorps anti-VHC ou d'anticorps récurrents non spécifiques. Par exemple, on peut détecter de petites quantités d'anticorps anti-VHC lorsque le test a lieu pendant une infection aiguë avant la séroconversion complète, ou si le sujet est immunodéprimé et que sa réponse immunitaire est atténuée,⁶⁻⁸ ou encore si l'infection a été combattue et que la quantité d'anticorps anti-VHC est en train de diminuer.⁴ Comme les immunoempreintes sont moins sensibles que les EIA, les échantillons pour lesquels l'EIA donne une faible réactivité ou un résultat indéterminé sont généralement négatifs ou indéterminés pour ce qui est de l'immunoempreinte. Par conséquent, dans les cas où il est le plus important de distinguer les véritables anticorps anti-VHC de réactions non spécifiques, ni l'EIA ni le dosage par immunoempreinte ne permet de diagnostiquer de façon définitive une infection active. Lorsque la réactivité est faible, le diagnostic requiert en général un TAN ou un test de suivi afin de confirmer la séroconversion.^{3,4,24,25}

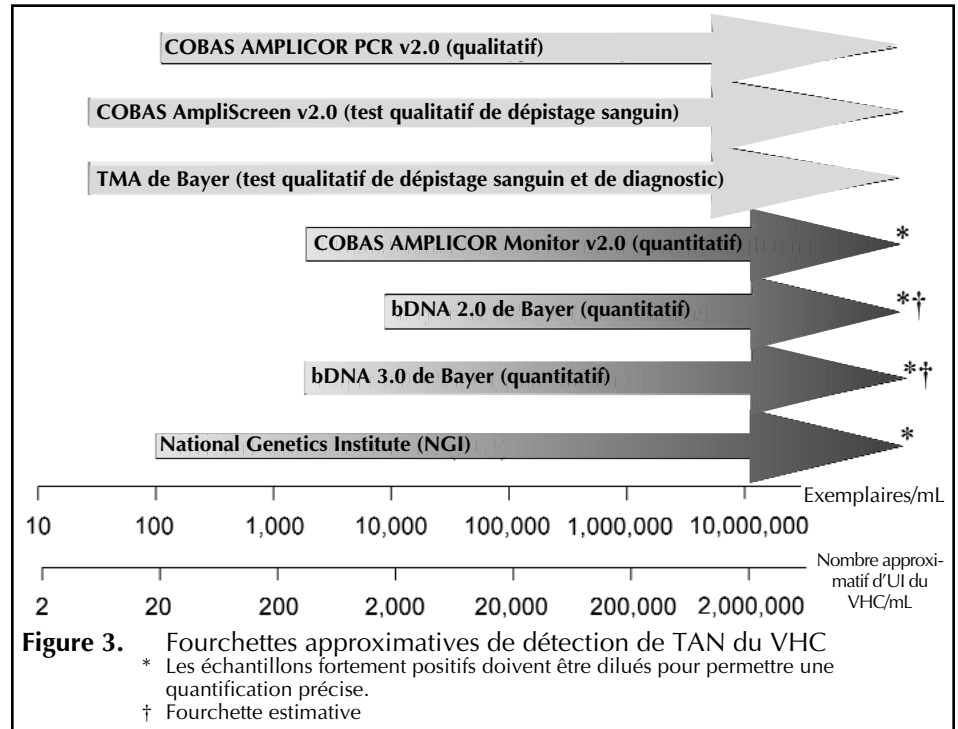
Principes des TAN

Un test d'acide nucléique (TAN) permet la détection directe de l'ARN propre au VHC dans le sérum, le plasma ou des tissus, indépendamment de la réponse immunitaire de l'hôte. L'acide nucléique viral détecté dans le plasma ou le sérum est le signe d'une réplication active du

VHC dans le foie,²⁶ qui peut produire de 10^{10} à 10^{13} virions par jour chez une personne qui a une infection chronique.¹³ Il y a deux méthodes principales de détection par TAN de l'ARN du VHC. La plus connue est l'amplification de la cible. Cette technique consiste à synthétiser *in vitro* un acide nucléique propre au VHC, puis de détecter le produit amplifié. La réaction en chaîne de la polymérase (tests COBAS AMPLICOR HCV PCR – qualitatif – et COBAS AMPLICOR HCV MONITOR – quantitatif – de Roche),²⁷ l'amplification à médiation par transcription (TMA, pour *transcription-mediated amplification*, de Bayer)² et l'amplification fondée sur la séquence de l'acide nucléique (NASBA, pour *nucleic acid sequence based amplification*, d'Organon)²⁸ sont des exemples de test par amplification de la cible. La seconde méthode fait intervenir l'amplification du signal : l'ARN du VHC est hybridé à une sonde d'ARN spécifique qui subit une importante amplification enzymatique, et le signal de sortie correspond à la quantité d'ARN cible du VHC présente dans l'échantillon. Mentionnons comme exemple de ce type de technique d'analyse l'ADN à chaîne ramifiée – ou bDNA pour *branched chain DNA* – (test Quantiplex VHC RNA 2.0, de Bayer, et la nouvelle version 3.0 en cours de mise au point).

Les TAN joueront un rôle de plus en plus important dans le diagnostic clinique, parce que la détection directe de l'ARN du VHC permet (a) de réduire l'intervalle entre une infection aiguë et la détection d'anticorps anti-VHC, de 5 ou 6 semaines à l'heure actuelle avec les EIA de troisième génération, à 1 ou 2 semaines (figure 1),²⁹⁻³¹ (b) de détecter une infection chez des sujets immunodéprimés dont la réponse immunitaire est atténuée, (c) de distinguer une infection active d'une infection guérie chez des patients séropositifs, (d) de détecter une infection périnatale indépendante de la présence d'anticorps maternels transmis de manière passive, et (e) de suivre la réponse au traitement.^{14-16,32}

Même si les TAN présentent des avantages par rapport aux tests sérologiques, des TAN de grande qualité ne sont pas encore largement disponibles, en partie à cause d'un certain nombre de problèmes techniques qui seront résolus d'ici quelques



années et parce que leur coût demeure prohibitif (environ six fois celui des EIA).

Facteurs techniques qui affectent l'exactitude des TAN

L'application de TAN pour le diagnostic du VHC se répand lentement à causes de limites techniques. Pour obtenir des résultats exacts et reproductibles, il faut normaliser avec soin l'ensemble du processus d'analyse. Dans le passé, seuls des TAN maison ou artisanaux étaient disponibles. Ils avaient tendance à être difficiles à reproduire d'un centre à l'autre et donnaient souvent de faux résultats positifs.³³ Ces tests artisanaux ont été en grande partie remplacés par des tests commerciaux reproductibles mais de sensibilité variable. De plus, les résultats quantitatifs d'un même échantillon soumis aux tests de différents fabricants présentaient des écarts de l'ordre de 1 à 10.^{4,26,34} Ces premiers tests commerciaux parvenaient en outre difficilement à détecter et quantifier de manière précise certains génotypes du VHC.²⁷

Depuis un an, les TAN commerciaux ont été ajustés pour détecter et quantifier toutes les souches ou génotypes connus du VHC,²⁷ et ont été rendus conformes à une nouvelle norme internationale concernant le VHC.³⁵ Une UI/mL correspond à envi-

ron 2 à 8 exemplaires/mL de VHC.^{36,37} On s'attend à ce que cela améliore de façon spectaculaire la reproductibilité des tests d'un même fabricant ainsi que d'un fabricant à l'autre, de même que l'exactitude de la détection. La normalisation des tests, la disponibilité d'instruments semi-automatisés à grande capacité, ainsi que le recours à des contrôles internes pour surveiller l'inhibition de l'amplification des acides nucléiques, ont permis d'accroître la capacité, la précision et la fiabilité des tests.^{38,39} La figure 3 donne une liste de divers tests qualitatifs et quantitatifs de détection de l'ARN du VHC.

Combinaison de tests sérologiques et de TAN pour le dépistage d'une infection active par le VHC

Comme on l'a déjà mentionné, les seuls tests sérologiques ne permettent pas à l'heure actuelle de déterminer si un sujet est activement infecté par le VHC. On peut distinguer (figure 2) deux catégories d'individus : 1) ceux qui présentent une forte réponse d'anticorps anti-VHC aux EIA de troisième génération (p. ex. au moins 2 à 3 fois le seuil du dosage) ont en grande majorité un résultat positif pour le dosage par immunoempreinte et le TAN; 2) ceux qui présentent une faible réponse

sérologique ont habituellement un résultat négatif ou indéterminé pour le dosage par immunoempreinte, et un résultat généralement négatif pour le TAN.

Sur environ 70 000 échantillons testés au BCCDC en 1999 avec un EIA du VHC de troisième génération, 7 700 (11 %) ont présenté un certain degré de séroréactivité. Parmi ceux-ci, de 82 à 85 % ont donné des signaux fortement positifs confirmés par un test avec un EIA de troisième génération d'un second fabricant. De 85 à 95 % des échantillons qui présentaient une forte séroactivité avec un EIA d'anticorps anti-VHC de troisième génération ont également été positifs pour un TAN comme AMPLICOR (test qualitatif).^{3,18-20}

Par contre, lorsque la réponse anti-VHC était faible (ce qui était le cas pour 15 à 18 % des échantillons séroréactifs testés au BCCDC en 1999), le dosage par immunoempreinte donnait le plus souvent un résultat négatif ou indéterminé et présentait donc un intérêt diagnostique limité. Un test AMPLICOR (qualitatif) sur ces individus, effectué sur des échantillons recueillis et manipulés de manière appropriée pour un TAN, a donné un résultat positif dans environ 5 à 10 % des cas. La plupart des échantillons positifs pour le TAN mais faiblement réactifs ou indéterminés pour ce qui est des anticorps anti-VHC présentaient une séroconversion aiguë, ou encore une réponse immunitaire atténuée du fait d'une immunosuppression.

Quel TAN devrait-on employer pour un diagnostic clinique ?

Comme on l'a déjà mentionné, les données publiées sur la sensibilité, la spécificité, la reproductibilité et la normalisation des divers TAN commerciaux sont très déroutantes. Avec l'adoption de la norme internationale sur le VHC (UI), on s'attend à ce que les fabricants arrivent bientôt à s'entendre sur la quantité relative d'ARN de VHC dans un échantillon donné et sur la sensibilité relative de leurs tests.^{36,37} La figure 3 montre la sensibilité relative et la fourchette de détection de TAN disponibles ou en cours de mise au point.

Comme le montre la figure 3, les TAN qualitatifs (AMPLICOR et TMA) sont plus sensibles que les TAN quantitatifs. Les

tests AmpliScreen (de Roche) et TMA (de Bayer) qui ont été mis au point pour le dépistage du VHC chez les donneurs de sang sont les plus sensibles.⁴⁰ À l'heure actuelle, les tests qualitatifs sont de l'ordre de 10 à 100 fois plus sensibles que les tests quantitatifs et peuvent détecter de façon fiable de 5 à 50 UI/mL (environ 10 à 100 exemplaires par mL). Les tests qualitatifs permettent de dire si l'ARN du VHC est présent ou non dans un échantillon. Comme le résume le tableau I, on devrait les utiliser pour : 1) détecter une infection aiguë avant la séroconversion, 2) lever l'incertitude en cas de faible réactivité ou de résultats sérologiques indéterminés, et 3) déterminer si un patient est activement infecté ou s'il a bien réagi au traitement.

Il est difficile d'évaluer la sensibilité et la spécificité cliniques de TAN qualitatifs, à cause de l'absence d'un étalon de mesure de l'infection par le VHC. Sur des populations infectées par le VHC et des populations de contrôle bien caractérisées, la sensibilité des TAN qualitatifs commerciaux avoisine les 95 à 99 %, et leur spécificité les 98 à 99 %.⁴ Pour atteindre ces chiffres toutefois, il faut des procédures de laboratoire très méticuleuses.

Génotypes du VHC

Le terme *génotype* désigne l'ensemble des gènes qui permettent d'identifier les groupes et sous-groupes de VHC détectés chez des patients. À l'heure actuelle, on connaît au moins 11 groupes et plus de 90 sous-groupes de VHC.^{2,41} Les génotypes du VHC sont typiquement différenciés par hybridation inverse avec des sondes spécifiques – test *Line Probe Assay* (INNO-LIPA VHC II, d'Innogenetics, en Belgique) disponible dans le commerce. Ce test fait intervenir l'hybridation spécifique du produit de la réaction en chaîne de la polymérase du test AMPLICOR avec des sondes propres à un génotype immobilisées dans le test *Line Probe Assay*, qui produisent une réaction colorée (l'équivalent, pour un acide nucléique, d'une immunoempreinte). D'autres techniques de détermination du génotype comprennent le polymorphisme de taille des fragments de restriction (RFLP pour *restriction fragment-length polymorphism*) des produits de la réaction en chaîne de la polymérase, ainsi que le séquençage direct.⁴²

Même si l'infection par certains génotypes (p. ex. le génotype I) semble être plus difficile à traiter,^{14,15,32} on ne sait pas si cela correspond à une virulence intrinsèque de ces génotypes.^{2,43}

TAN quantitatif pour le suivi d'un traitement antiviral

La bithérapie interféron-ribavirine a révolutionné le traitement des infections dues au VHC. Un traitement de 24 à 48 semaines peut éliminer du sang l'ARN détectable du VHC et améliorer l'histopathologie du foie chez environ 40 % des sujets infectés par le VHC qui ont des taux sériques élevés de transaminases.^{14,15,32} Fait particulièrement important, la plupart des patients qui répondent au traitement demeurent négatifs pour la présence d'ARN du VHC dans le sérum pendant au moins deux ans après l'arrêt du traitement.¹⁶ La réponse au traitement dépend notamment du sexe, de l'âge, du degré de fibrose hépatique, de la quantité d'ARN du VHC détectable dans le sérum (charge virale), ainsi que du génotype du virus. Environ 30 % des personnes infectées par un VHC de génotype I répondent au bout de 48 semaines de bithérapie, alors que 60 % des personnes infectées par un VHC d'un autre génotype répondent au bout de 24 semaines du même traitement. Même si la réponse à la bithérapie est liée à une charge virale avant traitement peu importante (moins de 2 000 000 exemplaires/mL selon le dosage du *National Genetics Institute*) chez les sujets infectés par un VHC de génotype I, cette corrélation repose sur des mesures de la charge virale effectuées à l'aide d'un test non commercial, qui n'est pas directement comparable aux tests actuellement offerts sur le marché.⁴ De plus, la valeur prédictive de la charge virale s'est avérée moins importante que le génotype du virus en cause.^{2,14,15,32,43}

Contrairement au VIH, où la charge virale est un prédicteur de l'évolution de la maladie et sert de marqueur substitut important de la réponse au traitement, la charge virale ne joue pas ce rôle dans le cas du VHC. En général, l'évolution d'une infection par le VHC est en forte corrélation avec le degré de fibrose hépatique.^{2,43,44} Un certain nombre d'études sont actuellement en cours pour déterminer si le suivi

de la charge virale de VHC au cours d'une bithérapie peut servir à détecter assez tôt les patients qui ne répondent pas au traitement, afin d'arrêter le traitement s'il est inefficace et de réduire ainsi les coûts globaux. Les résultats de ces études devraient être disponibles d'ici un an. Comme les tests quantitatifs offerts sur le marché sont moins sensibles que les tests qualitatifs, on ne devrait les employer que pour faire le suivi thérapeutique, et non pour confirmer une infection active ou déterminer si le traitement est efficace.

Détection d'antigènes du VHC

Une autre méthode de dépistage du VHC, en cours de mise au point pour être commercialisée, fait intervenir la détection d'antigènes du VHC dans le plasma ou le sérum.⁴⁵ Une version de ce test, qui détecte la présence d'antigènes libres du VHC dans l'échantillon, peut être particulièrement intéressante pour la détection de séroconversions aiguës. D'après des études sur des donneurs de sang, des antigènes du VHC peuvent être détectés dans les 2 semaines qui suivent une infection aiguë, ce qui est un résultat très semblable à celui des TAN (figure 1).²⁹ Par contre, étant donné la sensibilité plus grande et la disponibilité des TAN, le rôle des tests d'antigènes du VHC pour des diagnostics cliniques de routine demeure obscur. D'autres versions du test d'antigènes du VHC sont conçues pour détecter des antigènes du VHC en présence d'anticorps anti-VHC, ce qui pourrait être utile pour confirmer une infection active chez des patients qui ont une infection chronique ou pour suivre la réponse à une thérapie antivirale si le rendement du test se révèle satisfaisant.

CONCLUSION

Le diagnostic et le test du VHC sont nettement en évolution rapide. Cet article expose comment on peut combiner des tests sérologiques d'anticorps anti-VHC et des TAN pour établir de façon certaine si une personne a été ou est activement infectée. Le tableau I résume les points forts et les points faibles des divers tests. Dans l'avenir, on peut espérer disposer de TAN plus précis et reproductibles qui

accroîtront l'exactitude du diagnostic et guideront l'intervention thérapeutique auprès de chaque patient.

Même si la thérapeutique clinique ne relève pas en général des responsables de la santé publique, il est important de comprendre qu'un certain nombre de nouveaux agents thérapeutiques sont actuellement en cours de mise au point pour le traitement de l'hépatite C. Mentionnons notamment l'interféron pégylé et l'interféron consensus, plus puissants que l'interféron alpha actuellement employé avec la ribavirine.⁴⁶ Étant donné les résultats prometteurs de la bithérapie interféron alpha-ribavirine et les données préliminaires sur les nouveaux agents antiviraux, l'hépatite C pourrait fort bien devenir une maladie curable dont, à condition de combiner prévention et traitement, on pourra minimiser le risque de transmission et réduire le fardeau dans la population.^{47,48}

REMERCIEMENTS

L'auteur remercie Darrel Cook et le Dr Robert Brunham qui ont révisé le manuscrit de l'article.

RÉFÉRENCES

- Chien DY, Arcangel P, Medina-Selby A, et al. Use of a novel hepatitis C virus (HCV) major-epitope chimeric polypeptide for diagnosis of HCV infection. *J Clin Microbiol* 1999;37(5):1393-97.
- Schiff ER, de Medina M, Kahn RS. New perspectives in the diagnosis of hepatitis C. *Semin Liver Dis* 1999;19(Suppl 1):3-15.
- Gretch DR. Diagnosis tests for hepatitis C. *Hepatology* 1997;26:43S-47S.
- Pawlotsky JM. Diagnostic tests for hepatitis C. *J Hepatol* 1999;31(Suppl 1):71-79.
- National Institutes of Health Consensus Development Conference Panel statement: Management of hepatitis C. *Hepatology* 1997;26(3 Suppl 1):2S-10S.
- Bukh J, Wantzin P, Krogsgaard K, et al. High prevalence of hepatitis C virus (HCV) RNA in dialysis patients: Failure of commercially available antibody tests to identify a significant number of patients with HCV infection. *J Infect Dis* 1993;168:1343-48.
- Ridzon R, Gallagher K, Ciesielski C, et al. Simultaneous transmission of human immunodeficiency virus and hepatitis C virus from a needle-stick injury. *N Engl J Med* 1997;336(13):919-22.
- Thio CL, Nolt KR, Astemborski J, et al. Screening for hepatitis C virus in human immunodeficiency virus-infected individuals. *J Clin Microbiol* 2000;38(2):575-77.
- Cuthbert JA. Hepatitis C: Progress and problems. *Clinical Microbiology Reviews* 1994;7(4):505-32.
- Goodnough LT, Brecher ME, Kanter MH, AuBuchon JP. Transfusion medicine. First of two parts—blood transfusion. *N Engl J Med* 1999;340(6):438-47.
- Hoofnagle JH. Hepatitis C: The clinical spectrum of disease. *Hepatology* 1997;26:15S-20S.
- Vogt M, Lang T, Frosner G, et al. Prevalence and clinical outcome of hepatitis C infection in children who underwent cardiac surgery before the implementation of blood-donor screening. *N Engl J Med* 1999;341(12):866-70.
- Neumann AU, Lam NP, Dahari H, et al. Hepatitis C viral dynamics in vivo and the antiviral efficacy of interferon-alpha therapy. *Science* 1998;282(5386):103-7.
- McHutchison JG, Gordon SC, Schiff ER, et al. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis C. Hepatitis Interventional Therapy Group. *N Engl J Med* 1998;339(21):1485-92.
- Poynard T, Marcellin P, Lee SS, et al. Randomised trial of interferon alpha2b plus ribavirin for 48 weeks or for 24 weeks versus interferon alpha2b plus placebo for 48 weeks for treatment of chronic infection with hepatitis C virus. International Hepatitis Interventional Therapy Group (IHIT). *Lancet* 1998;352(9138):1426-32.
- Schwarz R, Glaumann H, Reichard O, Weiland O. Histological and virological long-term outcome in patients treated with interferon-alpha2b and ribavirin for chronic hepatitis C. *J Viral Hepat* 1999;6(3):237-42.
- Damen M, Zaaijer HL, Cuypers HTM, et al. Reliability of the third-generation recombinant immunoblot assay for hepatitis C virus. *Transfusion* 1995;35(9):745-49.
- Wilber JC, Polito A. Serological and virological diagnostic tests for hepatitis C virus infection. *Seminars in Gastrointestinal Disease* 1995;6(1):13-19.
- Zein NN, Germer JJ, Wendt NK, et al. Indeterminate results of the second-generation hepatitis C virus (HCV) recombinant immunoblot assay: Significance of high-level c22-3 reactivity and influence of HCV genotypes. *J Clin Microbiol* 1997;35(1):311-12.
- Krajden M, Zhao J, Bourke C, et al. Detection of hepatitis C virus by PCR in second-generation enzyme immunoassay-seropositive blood donors by using matched pairs of fresh frozen plasma and pilot tube sera. *J Clin Microbiol* 1996;34:2191-95.
- Goubau P, Reynders M, Beuselink K, et al. Confirmatory strategy of hepatitis C serology based on two screening assays in a diagnostic setting. *Acta Clinica Belgica* 1997;52(1):31-35.
- Allain JP, Kitchen A, Aloysius S, et al. Safety and efficacy of hepatitis C virus antibody screening of blood donors with two sequential screening assays. *Transfusion* 1996;36:401-5.
- Anderson SC, Hathaway T, Kuramoto IK, et al. Comparison of two second-generation anti-hepatitis C virus ELISA on 21431 US blood donor samples. *J Viral Hepatitis* 1995;2:55-61.
- Lok ASF, Gunaratnam NT. Diagnosis of hepatitis C. *Hepatology* 1997;26:48S-56S.
- Pawlotsky JM, Lonjon I, Hezode C, et al. What strategy should be used for diagnosis of hepatitis C virus infection in clinical laboratories? *Hepatology* 1998;27(6):1700-2.
- Pessoa MG, Terrault NA, Detmer J, et al. Quantitation of hepatitis G and C viruses in the liver: Evidence that hepatitis G virus is not hepatotropic. *Hepatology* 1998;27(3):877-80.
- Mellor J, Hawkins A, Simmonds P. Genotype dependence of hepatitis C virus load measurement in commercially available quantitative assays. *J Clin Microbiol* 1999;37(8):2525-32.

28. Lunel F, Cresta P, Vitour D, et al. Comparative evaluation of hepatitis C virus RNA quantitation by branched DNA, NASBA, and monitor assays. *Hepatology* 1999;29(2):528-35.
29. Peterson J, Green G, Iida K, et al. Detection of hepatitis C core antigen in the antibody negative 'window' phase of hepatitis C infection. *Vox Sang* 2000;78(2):80-85.
30. Alter HJ, Purcell RH, Shih JW, et al. Detection of antibody to hepatitis C virus in prospectively followed transfusion recipients with acute and chronic non-A, non-B hepatitis. *N Engl J Med* 1989;321(22):1494-1500.
31. Busch MP, Korelitz JJ, Kleinman SH, et al. Declining value of alanine aminotransferase in screening of blood donors to prevent posttransfusion hepatitis B and C virus infection. The Retrovirus Epidemiology Donor Study. *Transfusion* 1995;35(11):903-10.
32. Davis GL, Esteban-Mur R, Rustgi V, et al. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin for the treatment of relapse of chronic hepatitis C. International Hepatitis Interventional Therapy Group. *N Engl J Med* 1998;339(21):1493-99.
33. Zaaijer HL, Cuypers HTM, Reesink HW, et al. Reliability of polymerase chain reaction for detection of hepatitis C virus. *Lancet* 1993;341:722-24.
34. Pawlotsky J-M, Bastie A, Lonjon I, et al. What technique should be used for routine detection and quantification of HBV DNA in clinical samples? *J Virological Methods* 1997;65:245-53.
35. Martinot-Peignoux M, Boyer N, Le Breton V, et al. A new step toward standardization of serum hepatitis C virus-RNA quantification in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2000;31(3):726-29.
36. Saldanha J, Lelie N, Heath A. Establishment of the first international standard for nucleic acid amplification technology (NAT) assays for HCV RNA. WHO Collaborative Study Group. *Vox Sang* 1999;76(3):149-58.
37. Saldanha J. Standardization: A progress report. *Biologicals* 1999;27(4):285-89.
38. Martell M, Gomez J, Esteban JI, et al. High-throughput real-time reverse transcription-PCR quantitation of hepatitis C virus RNA. *J Clin Microbiol* 1999;37(2):327-32.
39. Albadalejo J, Alonso R, Antinozzi R, et al. Multicenter evaluation of the Cobas Amplicor HCV assay, an integrated PCR system for rapid detection of hepatitis C virus RNA in the diagnostic laboratory. *J Clin Microbiol* 1998;36(4):862-65.
40. Sun R, Schilling W, Jayakar H, et al. Simultaneous extraction of hepatitis C virus (HCV), hepatitis B virus, and HIV-1 from plasma and detection of HCV RNA by a reverse transcriptase-polymerase chain reaction assay designed for screening pooled units of donated blood. *Transfusion* 1999;39(10):1111-19.
41. Stuyver L, Wyseur A, van Arnhem W, et al. C virus genotyping. *J Clin Microbiol* 1996;34(9):2259-66.
42. Germer JJ, Rys PN, Thorvilson JN, Persing DH. Determination of hepatitis C virus genotype by direct sequence analysis of products generated with the Amplicor HCV test. *J Clin Microbiol* 1999;37(8):2625-30.
43. Zeuzem S, Franke A, Lee JH, et al. Phylogenetic analysis of hepatitis C virus isolates and their correlation to viremia, liver function tests, and histology. *Hepatology* 1996;24(5):1003-9.
44. Pontisso P, Bellati G, Brunetto M, et al. Hepatitis C virus RNA profiles in chronically infected individuals: Do they relate to disease activity? *Hepatology* 1999;29(2):585-89.
45. Aoyagi K, Ohue C, Iida K, et al. Development of a simple and highly sensitive enzyme immunoassay for hepatitis C virus core antigen. *J Clin Microbiol* 1999;37(6):1802-8.
46. Weiland O. Interferon and ribavirin combination therapy: Indications and schedules. *Forum (Genova)* 2000;10(1):22-28.
47. Garnett GP, Bartley LM, Cameron DW, Anderson RM. Both a 'magic bullet' and good aim are required to link public health interests and health care needs in HIV infection [news]. *Nat Med* 2000;6(3):261-62.
48. Gordon FD. Cost-effectiveness of screening patients for hepatitis C. *Am J Med* 1999;107(6B):36S-40S.