

Hépatite E, bilan d'activité du Centre national de référence des hépatites entéro-transmissibles, France, 2002-2004

Elisabeth Nicand, Vincent Enouf, Mélanie Caron

Centre national de référence des hépatites entéro-transmissibles), Hôpital d'instruction des armées Val-de-Grâce, Paris

INTRODUCTION

Virus transmis par voie féco-orale, le virus de l'hépatite E (VHE) est responsable d'hépatites aiguës qui ne diffèrent pas sur le plan clinique d'hépatites aiguës virales. La sévérité de l'infection est corrélée à l'âge du patient avec au cours d'épidémies dans les pays en voie de développement, un taux de mortalité évalué à 1 % dans la population générale, à près de 30 % chez les femmes enceintes [1]. Dans les pays industrialisés, la plupart des cas sont importés, cependant, de véritables cas autochtones d'hépatites E ont été rapportés dans les pays à haut niveau d'hygiène, dont la France, hors de tout séjour en zone d'endémie [2]. Alors que dans les pays endémiques, la transmission est liée à la consommation d'eau ou d'aliments contaminés par les excréta fécaux, l'origine de la contamination responsable des cas autochtones dans les pays les plus avancés n'est pas clairement définie. Les activités du Centre national de référence (CNR) VHE, focalisées sur les missions d'expertise et de diagnostic à partir d'échantillons humains adressés au CNR, sont présentées pour les trois premières années d'exercice (2002 à 2004).

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Les échantillons (sérums, selles) ont été adressés au CNR pour diagnostiquer l'infection par le VHE, ou pour confirmer la sérologie VHE détectée positive dans un autre laboratoire. Le contexte épidémiologique et clinique était précisé sur la fiche de renseignements (figure 1).

Figure 1

Fiche de renseignements clinico-épidémiologiques

Hôpital :	Adresse
Laboratoire :	
NOM :	Date de prélèvement :
Prénom :	Nature du prélèvement : sérum
Né(e) le : Sexe : M ☐ F ☐	selles
	environnement
RENSEIGNEMENTS	
Epidémiologiques ☐ Notion d'épidémie ☐ Contact avec un cas confirmé ☐ Séjour outre-mer récent (Pays : Date :) ☐ Toxi infection alimentaire	Cliniques ☐ Hépatite aiguë clinique : date du début ☐ Cytolyse hépatite : ALAT : ASAT : ☐ Autre affection (préciser) ☐ Vaccination hépatite A : ☐ oui ☐ non
EXAMENS DEMANDÉS	
☐ Anti-VHA ☐ IgM ☐ Ig totales	☐ Anti-VHE (IgG - IgM)
☐ PCR du VHA	☐ PCR du VHE
☐ Génotype	☐ Génotype
Envoi des échantillons : + 4 °C, en respectant le transport de substances biologiques	

La démarche diagnostique a reposé sur la détection sérologique des anticorps anti VHE et sur la recherche du virus par PCR pour tout échantillon sérique détecté positif vis-à-vis des anticorps spécifiques ou lors de contexte particulier (cas d'hépatite fulminante ou subfulminante, grossesse chez une femme présentant une cytolysé hépatique non étiologisée). Pour chaque aliquot de selles ou d'extrait hépatique lors de transplantation hépatique, le virus de l'hépatite E a été recherché par PCR.

Les anticorps anti VHE de type Ig G ont été détectés par méthode immunoenzymatique avec les trousse Abbott HEV EIA jusqu'en décembre 2003, puis HEV ELISA, Genlabs Diagnostics-Abbott, à partir de janvier 2004. Les Ig M ont été détectés avec la trousse HEV IgM ELISA, Genlabs Diagnostics, Abbott.

Les profils sérologiques ont été interprétés en fonction du rapport entre la densité optique de l'échantillon et les contrôles. La détection de l'ARN viral a été effectuée en utilisant les systèmes d'amplification des quatre principaux génotypes du virus.

Compte tenu des antigènes utilisés pour détecter les anticorps anti VHE et des données de la littérature définissant les performances des trousse sérologiques, soit pour la trousse Abbott HEV EIA détectant les Ig G et utilisée jusqu'en décembre 2003, une sensibilité et une spécificité de 90 % dans la phase aiguë de la maladie, pour la trousse HEV ELISA détectant les Ig G, une sensibilité et une

spécificité respectivement de 86 % et 92 % et pour la trousse HEV ELISA Ig M détectant les AC anti VHE de type Ig M, une sensibilité et une spécificité respectivement de 55 et 98 %, les profils biologiques ont été interprétés de la manière suivante [3].

Interprétation des profils biologiques

Un profil d'immunité ancienne a été défini en présence d'anticorps anti VHE de type Ig G détectés à un faible niveau et en l'absence de marqueurs de réplication virale sérique ou fécale.

Un cas avéré d'hépatite aiguë E a été défini comme un patient présentant un tableau clinique et biologique d'hépatite aiguë et pour lequel les anticorps anti VHE (de type Ig G et/ou Ig M) ont été détectés à un niveau élevé, associé ou non à la détection du virus par PCR dans le sérum et les selles. Chez les enfants, en raison de la fréquence des formes asymptomatiques, le critère clinique ne peut être inclus dans la définition des cas.

Un cas probable d'hépatite aiguë E a été défini en présence de la seule détection du virus par PCR dans le sérum et les selles et en l'absence de détection de marqueur sérologique anti VHE de type Ig G et Ig M. Afin d'éliminer un manque de spécificité de la réaction PCR et la possibilité de contamination, en l'absence de prélèvement séquentiel, la détection du génome viral a été contrôlée à partir de deux extractions différentes. L'analyse de la région amplifiée du génome a été complétée par séquençage.

Un cas douteux d'hépatite E a été évoqué devant un patient présentant un tableau clinique et biologique d'hépatite aiguë et pour lequel le seul marqueur virologique a été une forte réactivité de type Ig G, en l'absence de prélèvement séquentiel pour contrôler la sérologie.

RÉSULTATS

Au cours des trois premières années d'exercice (2002 à 2004), respectivement, 250, 184 et 287 échantillons biologiques ont été enregistrés par le CNR-VHE (tableau 1). En 2002, la majorité des échantillons biologiques était adressée par les centres hospitaliers universitaires (CHU) et hôpitaux généraux de Paris et la Région parisienne (n = 95/250) et le CHU Purpan, Toulouse (128/250) pour l'investigation virologique d'hépatites aiguës. En 2004, l'activité du CNR s'est étendue à d'autres hôpitaux et laboratoires privés pour la confirmation d'anticorps anti VHE de type IgM. Deux cas d'hépatites fulminantes transplantés ont été investigués par la recherche du VHE par PCR à partir de biopsies hépatiques prélevées avant transplantation.

Tableau 1

Caractéristiques clinico-épidémiologiques des demandes de diagnostic d'hépatite E. Données du CNR VHE, France, 2002-2004

Année	2002	2003	2004
Nombre de patients	209	155	233
Sexe ratio H/F	2.5	1.5	1.75
Ecart d'âge	1-84 ans	9-92 ans	1-82 ans
Moyenne d'âge	47 ans	43 ans	39 ans
Nombre de sérums	224	177	267
Nombre de selles	26	15	20
Biopsies hépatiques		2	

Le profil d'immunité ancienne a été détecté chez 11 patients testés en 2002, et respectivement 13 et 12 sujets testés en 2003 et 2004.

Investigation des cas d'hépatite E aiguë

Quarante-six cas d'hépatite E avérés ou probables ont été diagnostiqués au cours de ces trois années dont 16 cas après un séjour en zone d'endémie et 30 cas chez des patients sans antécédent de voyage ou après un séjour en Espagne (tableau 2) (figure 2). Trois profils sérologiques douteux ont été évoqués en l'absence de prélèvement séquentiel chez ces patients présentant par ailleurs un tableau clinique d'hépatite aiguë et une cytolysé hépatique.

Parmi les cas contractés après un séjour en zone d'endémie [Afrique (Egypte, Niger, Tchad, Burkina Fasso, Soudan), Asie (Inde, Bangladesh, Pakistan), Russie], 13 cas ont été confirmés par la détection des anticorps anti VHE de type Ig G et Ig M associée pour 7 d'entre eux à la virémie. Pour 2 cas, la détection du virus dans les selles a été associée à une forte réactivité Ig G en l'absence d'Ig M pour un cas et à la présence d'Ig M sans Ig G anti VHE pour le deuxième cas. Un cas probable d'hépatite E a été défini chez un patient ayant séjourné au Bénin pour lequel la détection du virus dans l'échantillon de selles a été le seul marqueur virologique en l'absence de réponse sérologique et de prélèvement séquentiel. Enfin, 1 cas a été classé douteux sur la seule présence avec un niveau de réactivité très élevé d'AC de type Ig G, en l'absence d'autre cause, en particulier immune ou toxique pouvant expliquer l'hépatite aiguë.

Tableau 2

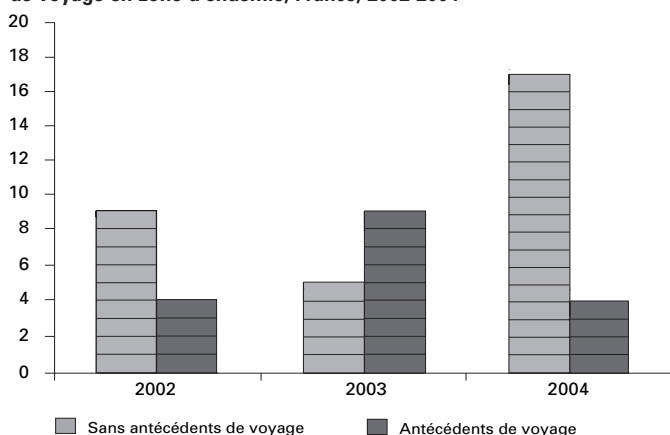
Répartition des cas d'hépatite E diagnostiqués selon les antécédents de voyage en zone d'endémie, données clinico- biologiques, France, 2002-2004

Contexte épidémiologique		Nombre de cas	Ratio H/F	Âge moyen (extrêmes)	Hépatite clinique (effectif)	ALAT > 10 N Effectif
Voyage en zone d'endémie	cas avéré	15	4	38 ans (25-67 ans)	15	15
	cas probable	1	F	22 ans	1	1
	cas douteux	1	M	49 ans	1	1
Pas de voyage en zone d'endémie	cas avéré	28	3	45 ans (4-78 ans)	26	26
	cas probable	2	2	62.5 ans	1	0
	cas douteux	2	2	62 ans	2	2

ALAT : alanine amino-transférases

Figure 2

Répartition des cas d'hépatite E diagnostiqués selon les antécédents de voyage en zone d'endémie, France, 2002-2004



La majorité des cas d'hépatites autochtones a été rapportée dans la région Midi-Pyrénées (21/30 cas). La forte réactivité des anticorps Ig G et Ig M anti VHE a été associée à la détection de la virémie et l'excrétion du virus dans les selles pour 16 d'entre eux. Pour 3 autres patients de cette même région, les cas d'hépatite E aiguë se sont déclarés après un voyage en Espagne (Catalogne). Deux autres cas probables d'hépatite E ont été évoqués dans cette région chez des patients présentant une cytolysé hépatique modérée, avec un taux d'alanine aminotransférase deux à trois fois la normale, et pour lequel le seul marqueur d'infestation a été la détection du virus dans les selles. Six autres cas avérés d'hépatite aiguë E autochtones dont 2 cas avec un suivi sérologique séquentiel ont été rapportés dans le sud de la France à Marseille et Nîmes (n = 2) et en Région parisienne (n = 4). Parmi eux, chez une patiente originaire d'Algérie mais n'ayant pas voyagé depuis au moins un an, la réponse sérologique était faible mais la détection du virus dans les selles a contribué à affirmer le diagnostic. Trois autres cas avérés autochtones sont survenus au sein d'une famille (les parents et un des enfants) résidant dans l'ouest de la France et après un séjour en région Midi-Pyrénées. Sur le plan clinique, la mère a présenté une cytolysé modérée alors que le jeune garçon de 4 ans fut asymptomatique sans cytolysé hépatique. Les prélèvements séquentiels effectués sur une période de six mois chez cette famille ont permis de confirmer le caractère récent de l'infection. Alors que l'un des parents a présenté un profil sérologique complet avec séroconversion Ig G et Ig M, chez le second parent, la réponse Ig M anti VHE est restée toujours négative, bien que la forte réactivité Ig G ait été associée à la détection du virus dans le sérum et les selles.

La notion de toxi-infection alimentaire par la consommation de coquillages crus est évoquée pour l'un des patients de la Région parisienne. Les sources de contamination des autres cas autochtones n'ont pas été clairement identifiées à ce jour.

La recherche du virus a été négative dans les deux échantillons hépatiques prélevés dans le cas des hépatites subfulminantes.

Depuis l'utilisation, en 2004, de la trousse détectant les Ig M anti VHE, cinq échantillons ont été interprétés comme faussement positifs soit par manque de reproductibilité du résultat sur le même échantillon ou sur deux échantillons séquentiels prélevés à un mois d'intervalle, soit

du fait du caractère isolé de la faible réactivité Ig M ; les Ig G anti VHE et la virémie restant négatifs sur les échantillons séquentiels.

DISCUSSION

La mise en place du CNR des hépatites entéro-transmissibles A et E a contribué à révéler la difficulté diagnostique de l'infection par le VHE. Ceci est tout d'abord lié aux performances moyennes des trousse sérologiques [3]. En effet, l'interprétation des résultats doit tenir compte de la composition des trousse, du niveau de réactivité des anticorps bien que les trousse utilisées détectent qualitativement les anticorps. Ainsi, du fait de la médiocre sensibilité de la trousse détectant les anticorps anti VHE de type Ig M, leur absence ne permet pas d'écarter formellement le diagnostic d'hépatite E. Dans l'expérience du CNR, ceci fut observé pour 2 cas avérés d'hépatite E alors que la virémie était positive. Ainsi des prélèvements séquentiels pour le suivi des marqueurs sérologiques ou la recherche virale dans les selles sont essentiels pour le diagnostic de certitude de l'infection à VHE. Par ailleurs, l'excrétion du virus dans les selles participe à la circulation du virus dans nos régions tempérées en l'absence de séjour en zone d'endémie.

D'autre part, dans les pays de faible endémicité comme les pays européens, la présence des Ig G n'est pas suffisante pour affirmer une infection récente. Le virus circule parmi la population n'ayant pas séjourné en zone d'endémie. En France, la séroprévalence a été évaluée à 2 % chez les donneurs de sang, augmentant avec l'âge des sujets testés [4] pour atteindre 15 % pour certaines catégories professionnelles (éleveurs, vétérinaires) [2]. Et les enquêtes réalisées montrent un niveau de réactivité Ig G très modérée.

Ainsi, le diagnostic d'hépatite E doit associer la détection des marqueurs sérologiques et la recherche du virus dans le sérum et les selles. Car d'une part, l'excrétion fécale du virus est prolongée par rapport à la virémie, précédant de quatre à huit jours l'apparition de la phase icterique et persistant trois à quatre semaines en moyenne, d'autre part, cela permet de détecter des virus dont les réponses sérologiques seraient faibles [5,6,7]. Les modalités de recueil des selles ne demandent pas de conditions spécifiques : une noix de selles dans un pot stérile transporté à + 4 °C en respectant les modalités de transport des échantillons biologiques est suffisante.

La création du CNR des hépatites entéro-transmissibles a contribué à identifier les cas autochtones d'hépatite E avec un foyer dans la région Midi-Pyrénées [6] ou les sources de la contamination à l'origine de ces cas ne sont à ce jour pas démontrées. Leur signalement aux autorités sanitaires (Ddass, Institut de veille sanitaire) et la collaboration avec d'autres structures (réseau Ifremer, Agence française de sécurité sanitaire des aliments) doivent permettre d'investiguer de potentiels facteurs de risque (coquillages, viande crue, contact avec les animaux, contact avec un autre cas d'hépatite E) et identifier de possibles sources de contamination (virus dans les eaux usées).

CONCLUSION

Le diagnostic d'infection par le virus de l'hépatite E nécessite de combiner la recherche de marqueurs sérologiques à partir d'outils performants et la détection du virus par amplification génique, l'interprétation des résultats se faisant en fonction des données épidémiologiques et cliniques.

La création récente du CNR a contribué à identifier des hépatites E autochtones avec un foyer dans la région Midi-Pyrénées, géographiquement proche de l'Espagne où la circulation du virus de l'hépatite E a été clairement démontrée. Ces données doivent inciter à élargir la recherche du virus au règne animal et à l'environnement par des collaborations avec les organismes concernés.

REMERCIEMENTS

Elisabeth Delaroque, Institut de veille sanitaire, Saint-Maurice pour la lecture du document.

Les cliniciens et virologues pour les données épidémiologiques et cliniques fournies ainsi que l'envoi des échantillons.

RÉFÉRENCES

- [1] Worm HC, van der Poel WHM, Brandstätter G. Hepatitis E: an overview. *Microb and Infect* 2002; 4:657-66.
- [2] Nicand E, Grandadam M. Virus de l'hépatite E. *Virologie* 2003; 7:87-96.
- [3] Lin CC, Wu JC, Chang TT, Chang WY, Yu ML, Tam AW, Wang SC, Huang YH, Chang FY, Lee SD. Diagnostic value of immunoglobulin G and M anti hepatitis E tests based on HEV RNA in an area where hepatitis E is not endemic. *J Clin Microbiol* 2000; 38:3915-8.
- [4] Denis F, Ranger-Rogez S, Nicot T. Les nouveaux virus des hépatites E, GB et suivants. *Transf Clin Biol* 1996; 1:19-25.
- [5] Aggarwal R, Kini D, Sofat S, Naik S, Krawczynski K. Duration of viraemia and faecal viral excretion in acute hepatitis E. *Lancet* 2000; 356:1081-2.
- [6] Mansuy JM, Peron JM, Abravanel F, Poirson H, Dubois M, Miedouge M, Vischi F, Alric L, Vinel JP, Izopet J. Hepatitis E in the South West of France in individuals who have never visited an endemic area. *J Med Virol* 2004; 74:419-24.
- [7] Nicand E, Grandadam M, Teyssou R, Rey JL, Buisson Y. Viraemia and faecal shedding of HEV in symptom free carriers. *Lancet* 2001; 357 68-9.