

CAHIER DE

# Formation

Biologie médicale

N°01

février 95

*HÉMATOLOGIE*

*Professeur Alain GOGUEL*

BIOFORMA

CAHIER DE

# Formation

## Biologie médicale



Ceci est la VERSION NUMERIQUE des CAHIERS BIOFORMA déjà parus et  
distribués à l'ensemble des LABORATOIRES D'ANALYSES de BIOLOGIE  
MEDICALE en FRANCE.

□

TOUT LE CONTENU DE CE FICHIER RESTE LA PROPRIETE DE BIOFORMA.  
LES DROITS D'AUTEURS SONT PROTEGES A LA B.N.F.

□

Toute reproduction, toute utilisation, partielle ou totale, des textes, schèmes et  
photos de cet ouvrage, sans l'autorisation écrite de BIOFORMA, seront  
poursuivies devant les tribunaux compétents.

□

Seule une impression pour une copie personnelle ( étudiant, interne, biologiste  
de labm ) est permise.



230 bd raspail 75014 Paris

**FORMATION CONTINUE  
CONVENTIONNELLE  
Des Directeurs de Laboratoires Privés  
d'Analyses de Biologie Médicale**



**ACTUALITES BIOLOGIQUES 1994**

Sous la direction du professeur Alain F. GOGUEL

**Contrôle national de qualité en  
Hématologie-Immunologie - Etalonorme 94 B**

**Mise au point d'actualité :  
anticoagulant circulant, antithrombine, hépatites,  
surveillance biologique de la grossesse**

Pr. M. Aiach, Dr. Y. Brossard, Pr. F. Denis, Pr. P. Dupuy, Pr. A. Goguel,  
Pr. A. Gompel, Dr. L. Houbouyan, Dr. V. de Lachaux, Dr. G. Lesur,  
Dr. Ph. Martin, Pr. J.C. Piette, Dr. S. Rogez-Ranger, Dr. J. Roussi,  
Dr. P. Sie, Pr. M. Tournaire

*Miroir de la pratique quotidienne, les enquêtes interlaboratoires collectent des informations témoignant de l'état de l'art dans la pratique biologique. Ces données constituent une aide à la décision dans la pratique quotidienne du laboratoire, dans les choix des réactifs, des techniques, des technologies, des équipements, enfin dans l'identification des besoins de perfectionnement ou de modification réglementaire.*

*On trouvera ici des informations sur des tests de coagulation utilisés en dépistage de risque hémorragique : TQ, TCA ou de risque thrombosant : ACC, AT, suivies d'exposés de cliniciens sur l'intérêt de la recherche d'antiphospholipides et grossesse.*

*L'actualité des risques de transmission de virus, alimentaire, parentérale, par transfusion, au cours de la grossesse, voire par rapports sexuels, a justifié d'une part les enquêtes interlaboratoires sur les marqueurs des hépatites B et C ou le VIH (93 M), d'autre part la publication de textes faisant le point sur les virus, l'épidémiologie, les modes de transmission, les moyens de prévention, les pathologies.*

*La place des examens biologiques dans la surveillance de la grossesse, les problèmes très particuliers de la détection et de la prévention des incompatibilités foeto-maternelles comme les performances effectives des recherches d'anticorps irréguliers font l'objet de mises au point actualisant les connaissances sur la biologie et la réglementation de cette surveillance.*

## L I S T E   D E S   A U T E U R S

- Professeur Martine AIACH  
Professeur des Universités - Praticien Hospitalier  
Responsable du Laboratoire d'Hémostase  
Service de Biochimie  
Hôpital Broussais - 75674 PARIS CEDEX 14  
Faculté de Médecine Broussais-Hôtel Dieu - Université Paris VI
- Docteur Yves BROSSARD  
Centre d'Hémobiotologie Périnatale  
53, boulevard Diderot - 75570 PARIS CEDEX 12
- Professeur François DENIS  
Chef du Département de Bactériologie-Virologie  
Centre Hospitalier Régional et Universitaire  
Hôpital Universitaire Dupuytren  
2, avenue Alexis Carrel - 87042 LIMOGES CEDEX
- Professeur Pierre DUPUY  
Professeur des Universités - Praticien Hospitalier  
Service de Gastro-Entérologie  
Hôpital Ambroise Paré - 92104 BOULOGNE CEDEX  
Faculté de Médecine Paris-Ouest - Université Paris V - René Descartes
- Professeur Alain GOGUEL  
Directeur Scientifique des Confrontations Interlaboratoires Etalonorme  
Professeur des Universités - Praticien Hospitalier  
Chef du Service Central d'Immuno-Hématologie  
Hôpital Ambroise Paré - 92104 BOULOGNE CEDEX  
Faculté de Médecine Paris-Ouest - Université Paris V - René Descartes
- Professeur Anne GOMPEL  
Professeur des Universités - Praticien Hospitalier  
Service de Gynécologie-Obstétrique  
Hôpital Hôtel-Dieu - 75181 PARIS CEDEX 04  
Faculté de Médecine Broussais-Hôtel Dieu - Université Paris VI
- Docteur Liliane HOUBOUYAN  
Maître de Conférence des Universités - Praticien Hospitalier  
Responsable du Laboratoire d'Hémostase  
Service Central d'Immuno-Hématologie  
Hôpital Ambroise Paré - 92104 BOULOGNE CEDEX  
Faculté de Médecine Paris-Ouest - Université Paris V - René Descartes
- Docteur Vincent de LACHAUX  
Centre d'Hémobiotologie Périnatale  
53, boulevard Diderot - 75570 PARIS CEDEX 12
- Docteur Gilles LESUR  
Praticien Hospitalier  
Service de Gastro-Entérologie  
Hôpital Ambroise Paré - 92104 BOULOGNE CEDEX  
Faculté de Médecine Paris-Ouest - Université Paris V - René Descartes

- Docteur Philippe MARTIN  
Centre Hospitalier Régional et Universitaire  
Hôpital Universitaire Dupuytren  
2, avenue Alexis Carrel - 87042 LIMOGES CEDEX
- Professeur Jean-Charles PIETTE  
Professeur des Universités - Praticien Hospitalier  
Service de Médecine Interne  
Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière - 75651 PARIS CEDEX 13  
Faculté de Médecine Pitié-Salpêtrière - Université Paris VI
- Docteur Sylvie ROGÉZ-RANGER  
Centre Hospitalier Régional et Universitaire  
Hôpital Universitaire Dupuytren  
2, avenue Alexis Carrel - 87042 LIMOGES CEDEX
- Docteur Jacqueline ROUSSE  
Maître de Conférence des Universités - Praticien Hospitalier  
Laboratoire d'Hématologie  
Hôpital Raymond Poincaré - 92380 GARCHES  
Faculté de Médecine Paris-Ouest - Université Paris V - René Descartes
- Docteur Pierre SIE  
Laboratoire d'Hématologie  
Hôpital Purpan - Pavillon Charles Lefebvre  
31059 TOULOUSE CEDEX
- Professeur Michel TOURNAIRE  
Professeur des Universités - Praticien Hospitalier  
Service de Gynécologie-Obstétrique  
Hôpital Saint-Vincent de Paul - 75074 PARIS CEDEX 14  
U.F.R. Cochin-Port Royal

## CONTROLE NATIONAL DE QUALITE EN HEMATOLOGIE-IMMUNOLOGIE ETALONORME 94 B et 93 M

*Ce fascicule présente les principaux résultats de l'opération de Contrôle de Qualité Etalonorme 94 B, organisée sous l'autorité de l'Agence du Médicament par convention avec Bioforma en Juin 1994. Il présente les textes des experts faisant le point sur certaines des pathologies explorées par les confrontations 93 M et 94 B. Pour chaque thème on trouve ainsi, l'état de l'art des pratiques biologiques en France et l'état des connaissances.*

### **Confrontation interlaboratoire 94 B**

*La confrontation 94 B s'est déroulée en juin 1994. L'exploitation finale a porté sur les résultats de 4 283 laboratoires.*

*Cette opération a exploré tout particulièrement les tests d'hémostase avec la détermination du temps de Quick, du temps de céphaline + activateur, le dépistage et les tests de confirmation d'un anticoagulant circulant (ACC) immun, présent dans l'échantillon B3, le dosage de l'antithrombine III, normal sur l'échantillon B4. Un frottis avait été préparé avec le sang d'un sujet porteur d'une splénomégalie myéloïde. Enfin les tests de dépistage sérologique des hépatites B et C devaient être pratiqués sur un sérum contenant des anticorps anti-HBs, IgG anti-HBc, anti-HBe et anti-HCV. Ce sérum B5 était négatif en antigène HBs et antigène HBe, négatif aussi en anticorps IgM anti-HBc.*

### **Principaux résultats 94 B et points de vue des experts**

#### **Hémostase, TQ, TCA, ACC, AT III.**

*Pour les temps de Quick, les dispersions sur les deux échantillons lyophilisés, exprimées en CV%, sont très voisines de 6%. Les dispersions des expressions en activité : taux de prothrombine (TP) sont de 10,8% pour B3 et de 4,5% pour B4.*

*Les temps de céphaline + activateur étaient quasi normaux pour le plasma B4, allongés pour le plasma B3, avec des dispersions globales très différentes : témoin local 6,4%, B4 : 8,8%, B3 : 19%. On note que quinze réactifs différents sont utilisés chacun par plus de vingt laboratoires.*

*Le temps de céphaline + activateur du mélange "B3 + témoin local" (M+T) a été déterminé par 2 698 laboratoires. De nombreux appels téléphoniques témoignent de la nouveauté de cette recherche pour certains laboratoires. Les résultats en temps ou en rapport des temps sont encore plus dispersés que les TCA de B3, avec des CV voisins de 20%. Le R-TCA moyen (M+T) est de 1,36 pour l'ensemble, avec selon les céphalines des R-TCA moyen de 1,17 à 1,60. Les réponses d'interprétation de ce TCA (M+T) reflètent ces résultats avec 1 859/2 653 réponses "suspicion d'ACC" (70%).*

*Les résultats de l'enquête sur l'emploi et l'interprétation des tests de confirmation des ACC témoignent d'abord d'une pratique d'ensemble limitée, seuls 830 laboratoires ont répondu à au moins un test de confirmation. On peut comparer la sensibilité de ces différents tests en examinant les rapports entre réponses positives et nombre total de réponses pour ce test.*

*On trouvera plus loin deux textes, l'un du docteur Jacqueline Roussi, l'autre du Professeur Pierre Sié sur les méthodes de détection des ACC, un texte du Professeur Anne Gompel : antiphospholipides et grossesse et un texte du Professeur Jean-Charles Piette : intérêt de la recherche des anticorps antiphospholipides : le point de vue du clinicien.*

*En médecine interne, de nombreuses publications portent sur le syndrome des antiphospholipides et les ACC, la proximité des pathologies lupiques, des avortements spontanés et des thromboses liées. En effet, curieusement, ce marqueur biologique anticoagulant circulant immun antiphospholipide, ne témoigne pas d'une tendance hémorragique, mais bien d'un risque thrombosant ! Ce stigmate biologique témoigne d'un désordre sous-jacent complexe.*

La reconnaissance comme "normal" du taux d'antithrombine III (AT) sur l'échantillon B4 s'accompagne pourtant d'une notable dispersion des résultats : CV 11% pour les résultats exprimés en pourcentage d'activité, CV 16% pour les résultats exprimés en milligrammes par décilitre (ou en mg/litre, corrigés avant traitement statistique). La moyenne des résultats des techniques de néphélométrie (25,4 mg) est plus basse que celle des autres techniques colorimétriques (29,5 mg), chronométriques (28,6 mg), d'immunodiffusion radiale, IDR, Mancini, (30,6 mg), ou du Liatest (29,5 mg). Reste que 40 réponses en activité et 33 réponses en masse correspondent à des déficits. Seuls les biologistes émetteurs de ces réponses ont les informations sur la signification, transcription ou analyse, de ces erreurs.

Le Professeur Martine Aïach a préparé un texte de synthèse sur les connaissances actuelles de l'AT et on peut relire le texte de Jacqueline Roussi et Dominique François, publié dans les bonnes feuilles des Annales du contrôle de qualité hématologie 1992 Bioforma ed.

Le dosage de l'AT est utilisé dans deux circonstances principales : pour la détection de contre-indications à la contraception orale et pour la recherche de facteurs favorisant une thrombose.

### **Hépatites**

Pour 94 B, les marqueurs sérologiques de l'hépatite B ont été recueillis en identifiant spécifiquement les résultats de la recherche d'anticorps IgM anti-HBc, ce qui n'avait pas été réalisé dans les confrontations antérieures. Les taux de bonnes réponses : absence d'antigène HBs, présence d'anticorps anti-HBs, sont voisins de 99,5%. Pour les anticorps anti-HBc totaux 2 350/2 378 et IgM anti-HBc 1 129/1 151 ces taux sont voisins de 98%. La participation reste notable pour l'étude des marqueurs antigène HBe, (absent : 544/551) et anticorps anti-HBe, (présent : 558/574).

Le taux de détection des anticorps anti-HCV, 1 654/1 661 participants, est supérieur à 99,4%. Seuls 6 laboratoires ont fourni deux réponses négatives.

On se rappelle que dans la confrontation 93 M de juin 1993, un sérum réputé provenir d'une femme enceinte donnait des tests de détection de l'antigène HBs positifs.

Le Professeur François Denis et ses collaborateurs exposent le point de vue des virologues et des épidémiologistes sur les hépatites virales A, B, C, E et les problèmes très spécifiques des risques de transmission de la mère à l'enfant.

Les problèmes "rétrovirus et femme enceinte", "transmission mère-enfant des virus du SIDA", "transmission mère-enfant des virus HTLV", sont l'objet de trois mises au point des mêmes auteurs.

Le point de vue des cliniciens internistes et gastro-entérologues sur les hépatites B et C est exposé par le Professeur Pierre Dupuy et le Docteur Gilles Lesur pour les hépatites B et C.

L'actualité sur l'hépatite B est marquée par la campagne de vaccination en cours, l'identification de différentes populations cibles dont celles des nouveau-nés de mères HBs positives, ce qui suppose une identification préalable de ces femmes... Les modalités de transmission des différentes hépatites, avec en particulier les transmissions sexuelles et transfusionnelles des hépatites B et C, entraînent une extrême sensibilité de l'opinion publique. Dans les populations contaminées, les risques d'hépatites chroniques actives, de cirrheses, d'hépatocarcinomes, les traitements éventuels, sont l'objet de travaux et de débats.

### **RAI et incompatibilité foeto-maternelle**

Le rôle du biologiste face aux risques d'incompatibilités foeto-maternelles est exposé par Yves Brossard et V. de Lachaux. La biologie tient un rôle clef dans le dépistage des incompatibilités foeto-maternelles et la prévention des allo-immunisations.

### **Surveillance biologique de la femme enceinte**

Le Professeur Michel Tournaire a accepté de reprendre pour nous les règles de la surveillance médicale de la grossesse et la place des examens biologiques.

Cet exposé permet de replacer chacune des explorations dans un calendrier et dans un contexte cohérents.

### **Organisation générale**

La sécurité sanitaire est un concept en expansion ; nous vivons une époque de transformation rapide des connaissances, des techniques, des mentalités, des réglementations, où une obligation de résultat remplace progressivement la bonne volonté et la compétence. Ces éléments justifient cette tentative d'harmoniser contrôle de qualité national et enseignement post universitaire.



*Pour l'équipe Etalonorme, Mesdames Raluca Alterescu (frottis sanguin), Liliane Houbouyan (AT et tests de coagulation), Jacqueline Roussi (ACC), ont participé à l'organisation et à l'exploitation scientifique de cette confrontation 94 B.*

*Il faut remercier tous les experts qui dans les différents domaines : ACC et coagulation, RAI, sérologie des hépatites, frottis, participent à la bonne tenue des ces opérations de contrôle de qualité.*

*La mise en œuvre de la confrontation interlaboratoire 94 B s'est faite par convention avec Bioforma, sous l'autorité et avec la participation de l'Agence du médicament. Ce fut une opération complexe, impliquant de nombreuses équipes : scientifiques pour la préparation et l'exploitation, transfusionnelles pour l'approvisionnement, industrielles pour la mise en œuvre. Les échantillons ont été distribués par le service public de la Poste. L'exploitation informatique et statistique a été mise en œuvre par l'équipe d'Etalonorme, à l'Hôpital Ambroise Paré de Boulogne-Billancourt.*

Alain F. GOGUEL  
Directeur Scientifique d'Etalonorme  
Hématologie – Hôpital Ambroise Paré  
F. 92100 Boulogne.

## REFERENCES

**Etalonorme : Immuno-Hématologie** – Hôpital Ambroise Paré – 9, avenue Charles de Gaulle – 92104 Boulogne-Billancourt CEDEX.

**A. Goguel, R. Alterescu, K. Crainic, A. Ducaïlar, L. Houbouyan, F. Héritier, M. Simonneau, J. Hindley, C. Guéguen, C. Desmarchais, P. Singrelin.**

### *Laboratoires de référence pour la coagulation*

**Pr M. Aiach, Dr M. Alhenc-Gelas** – Hôpital Broussais – Paris ; **Pr B. Boneu** – CHU Rangueil – Toulouse ; **Dr L. Houbouyan** – Hôpital Ambroise Paré – Boulogne ; **Pr I. Juhan, Dr M.F. Aillaud** – Hôpital La Timone – Marseille ; **Dr M. Pommereuil** – CHU Pontchaillou – Rennes ; **Dr A. Robert** – Hôpital La Conception – Marseille ; **Pr P. Sie** – CTS – CHU Purpan – Toulouse ; **Dr J.M. Freyssinet** – Institut d'hématologie – Strasbourg ; **Dr G. Reber, Dr P. de Moerloose** – Hôpital Cantonnal – Genève ; **Dr J. Roussi** – Hôpital Raymond Poincaré – Garches ; **Dr M.L. Scrobohaci** – Hôpital Saint Louis – Paris.

### *Laboratoires de référence pour les RAI*

**Dr P.Y. Le Pennec** – CTS Hôpital Saint-Antoine – Paris ; **Dr J.C. Bonneau, Dr B. Cavalier** – CTS Bois-Guillaume ; **Dr F. Héritier** – Hôpital Ambroise Paré – Boulogne ; **Dr J. Debeaux** – CTS Lyon ; **Dr C. Krausé** – CTS Strasbourg ; **Mme L. Mannessier** – CTS Lille ; **Dr. F. Roubinet** – CRTS – Hôpital Purpan – Toulouse.

### *Laboratoires de référence pour les hépatites virales et HIV.*

**Dr J.C. Bonneau, Dr. C. Chuteau** – CTS Bois-Guillaume ; **Mme A.M. Couroucé** – CTS Paris ; **Mme M. Maniez-Montreuil**, CTS Lille ; **Dr F. Roubinet, Dr B. Smilovici** – CTS CHU Hôpital Purpan – Toulouse ; Hôpital Ambroise Paré – Boulogne.

### *CTS et centres et plasmaphèreses*

**Dr A. Bussel** – CTS Hémobiologie – Hôpital Saint-Louis – Paris ; **Dr P.Y. Le Pennec** – CTS Saint-Antoine – Paris.



## HEMOSTASE 94

### B3 - B4

- Temps de Quick
- Temps de Céphaline + Activateur
- Recherche d'Anticoagulant Circulant

- Résultats des participants.
- Analyse des résultats.
- Etat des connaissances sur les anticoagulants circulants.

- Antithrombine III.

**Temps de Quick en secondes – Etalonorme 94 B3, B4**  
**Résultats des participants**  
*Groupes de 11 laboratoires et plus utilisant la même thromboplastine.*

Thromboplastines/Toutes Techniques	Effectifs		Temps témoin			Temps B3			Temps B4		
	n	%	m	s	CV %	m	s	CV%	m	s	CV %
Akzo Organon Teknika Simplastin Excel	75	1,9	11,80	0,74	6,2	12,99	1,11	8,5	11,40	0,86	7,5
Akzo Organon Teknika Simplastin Excel S	17	0,4	12,85	1,41	10,9	14,67	2,03	13,8	12,24	1,35	10,9
Baxter Dade IS	55	1,4	13,95	0,64	4,6	16,26	0,89	5,4	13,34	0,82	6,1
Behring Thromborel	56	1,4	12,05	0,61	5,0	14,19	0,76	5,3	11,63	0,74	6,3
bioMérieux Thrombomat	1290	32,0	12,08	0,49	4,0	13,71	0,67	4,9	11,83	0,75	6,3
Diagnostica Stago Néoplastine	1380	34,2	12,06	0,54	4,4	13,41	0,72	5,3	11,82	0,72	6,1
Diagnostica Stago Néoplastine CI	573	14,2	12,04	0,53	4,3	13,64	0,68	4,9	11,72	0,72	6,1
Diagnostica Stago Néoplastine CI Plus	43	1,1	12,13	0,57	4,7	13,68	0,58	4,2	11,76	0,59	4,9
Ortho OBT	31	0,8	13,00	0,64	4,9	14,55	0,82	5,6	12,88	0,73	5,6
Technique Biologique TB Plastine	122	3,0	12,02	0,51	4,2	14,12	0,92	6,5	12,16	0,77	6,3
Thromboplastine IL	170	4,2	12,63	0,51	4,0	14,37	0,60	4,1	11,85	0,79	6,6

**Temps de Quick activité % - Etalonorme 94 B3, B4**  
**Résultats des participants**  
*Groupes de 11 laboratoires et plus utilisant la même thromboplastine.*

Thromboplastines/Toutes Techniques	Effectifs		Activité TP B3			Activité TP B4		
	n	%	m	s	CV%	m	s	CV%
Akzo Organon Teknika Simplastin Excel	76	1,9	79,25	8,92	11,2	100,83	3,74	3,7
Akzo Organon Teknika Simplastin Excel S	17	0,4	77,94	7,52	9,6	102,52	6,23	6,0
Baxter Dade IS	53	1,3	73,69	7,50	10,1	100,51	4,13	4,1
Behring Thromborel	55	1,4	74,52	7,38	9,9	101,61	7,31	7,1
bio Mérieux Thrombomat	1277	31,8	75,00	7,89	10,5	99,40	4,39	4,4
Diagnostica Stago Néoplastine	1379	34,3	77,32	9,02	11,6	99,22	3,51	3,5
Diagnostica Stago Néoplastine CI	574	14,3	75,56	6,72	8,8	100,40	4,93	4,9
Diagnostica Stago Néoplastine Plus	42	1,0	78,57	6,54	8,3	101,78	6,47	6,3
Ortho OBT	32	0,8	73,84	7,59	10,2	100,64	4,61	4,5
Technique Biologique TB Plastine	120	3,0	69,45	8,40	12,0	97,31	6,26	6,4
Thromboplastine IL	168	4,2	77,07	4,82	6,2	102,57	6,63	6,4

**Temps de Céphaline + Activateur en secondes - Etalonorme 94 B3, B4**  
**Résultats des participants**  
*Groupes de 11 laboratoires et plus utilisant la même Céphaline.*

Céphalines/Toutes techniques	Effectifs		Temps témoin			Temps B3(sec.)			Temps B4(sec.)		
	n	%	m	S	CV%	m	s	CV%	m	S	CV%
Akzo Organon Teknika aAPTT	206	5,1	29,9	2,24	7,4	43,1	5,22	12,1	30,1	2,61	8,6
Akzo Organon Teknika Platelin LS	16	0,4	30,3	3,09	10,1	53,5	7,58	14,1	29,6	3,50	11,8
Baxter Dade Actin	25	0,6	29,0	2,30	7,9	41,3	6,61	15,9	30,2	2,60	8,5
Baxter Dade Actin FS	35	0,9	31,0	2,60	8,3	37,9	6,21	16,3	32,3	3,34	10,3
Baxter Dade Actin FSL	53	1,3	31,1	1,68	5,4	46,1	5,16	11,1	33,1	2,40	7,2
Behring Pathromtin	54	1,3	32,0	2,11	6,5	43,4	5,38	12,3	33,3	2,69	8,0
bioMérieux Actimat	360	8,9	31,4	2,41	7,6	46,6	7,86	16,8	34,0	3,82	11,2
bioMérieux Céphalite	141	3,5	32,5	2,63	8,0	43,2	6,31	14,5	34,3	3,66	10,6
bioMérieux Silimat	696	17,3	31,4	1,96	6,2	54,9	7,90	14,3	32,1	2,93	9,1
Diagnostica Stago CK Prest	1075	26,7	31,1	1,79	5,7	38,6	4,72	12,2	32,1	2,27	7,0
Diagnostica Stago PTTA	500	12,4	31,4	1,89	6,0	44,6	5,23	11,7	32,3	2,46	7,6
Diagnostica Stago PTT-LA	33	0,8	33,0	2,50	7,5	54,6	12,34	22,5	33,3	2,96	8,8
Diagnostica Stago PTT-LT	378	9,4	31,3	1,98	6,3	48,3	5,82	12,0	32,5	2,38	7,3
IL TCA Silice	116	2,9	30,8	1,51	4,9	43,3	3,52	8,1	31,6	1,90	6,0
Ortho Thrombosil	74	1,8	29,9	2,03	6,7	40,8	3,33	8,1	32,3	2,78	8,5
Technique Biologique Auto CK	83	2,1	31,7	2,07	6,5	51,4	11,29	21,9	32,5	2,69	8,2
Autres	135	3,4	31,2	1,87	5,9	43,9	9,18	20,9	32,3	3,76	11,6

**Temps de Céphaline + Activateur – Rapport – Etalonorme 94 B3, B4**  
**Résultats des participants**  
**Groupes de 11 laboratoires et plus utilisant la même Céphaline**

Céphalines/Toutes Techniques	Effectifs		Rapport des temps B3/TTL			Rapport des temps B4/TTL		
	n	%	m	s	CV%	m	S	CV%
Akzo Organon Teknika aAPTT	208	5,2	1,44	0,14	9,5	1,00	0,06	6,3
Akzo Organon Teknika Platelin LS	16	0,4	1,77	0,23	12,7	0,98	0,07	7,3
Baxter Dade Actin	25	0,6	1,42	0,17	12,1	1,04	0,07	6,4
Baxter Dade Actin FS	35	0,9	1,22	0,19	15,7	1,03	0,07	7,0
Baxter Dade Actin FSL	53	1,3	1,48	0,17	11,7	1,06	0,08	7,8
Behring Pathromtin	57	1,4	1,34	0,16	12,2	1,03	0,08	7,3
bioMérieux Actimat	362	9,0	1,47	0,21	14,4	1,07	0,10	8,9
bioMérieux Céphalite	145	3,6	1,32	0,18	13,3	1,05	0,10	9,6
bio Mérieux Silimat	686	17,1	1,74	0,23	13,0	1,02	0,07	6,7
Diagnostica Stago CK Prct	1069	26,6	1,24	0,14	11,6	1,03	0,07	6,4
Diagnostica Stago PTTA	501	12,5	1,42	0,16	11,0	1,03	0,07	6,9
Diagnostica Stago PTT-LA	32	0,8	1,71	0,35	20,3	1,00	0,05	4,6
Diagnostica Stago PTT-LT	376	9,4	1,54	0,17	11,1	1,04	0,07	6,7
IL TCA Silice	116	2,9	1,40	0,09	6,3	1,03	0,05	5,0
Ortho Thrombosil	74	1,8	1,36	0,12	8,5	1,07	0,07	6,8
Technique Biologique Auto CK	75	1,9	1,64	0,36	22,1	1,02	0,06	6,2

**Temps de Céphaline + activateur du mélange "B3 + témoin"**  
**Résultats des participants**

Réactif	TCA TTL (sec)	TCA "B3 + témoin" (sec)				Rapport TCA (B3 + témoin)/témoin*			
	m	N	m	s	CV%	n	m	s	CV%
B - Absence d'information	31,2	72	42,3	8,9	21,1	74	1,32	0,26	19,6
C - Akzo Organon Teknika aAPTT	29,9	172	40,4	5,1	12,6	174	1,36	0,18	13,4
E – Akzo Organon Teknika Platelin LS	30,3	13	49,3	5,5	11,2	13	1,57	0,19	12,3
F - Baxter Dade Actine	29,0	16	37,2	10,7	28,8	16	1,29	0,33	25,9
G - Baxter Dade Actin FS	31,0	27	36,1	8,3	23,0	27	1,17	0,23	19,7
H - Baxter Dade Actin FSL	31,1	44	40,7	5,6	13,9	44	1,30	0,17	12,7
I – Behring Pathromtin	32,0	37	42,0	8,1	19,2	37	1,30	0,22	17,1
J – bioMérieux Actimat	31,4	192	42,7	7,7	18,2	195	1,36	0,26	18,7
K – bioMérieux Céphalite	32,5	58	41,5	7,5	18,2	59	1,28	0,27	21,0
L – bioMérieux Silimat	31,4	450	50,1	8,1	16,1	464	1,60	0,28	17,5
M – Diagnostica Stago CK Prest	31,1	632	36,9	5,9	16,1	635	1,19	0,20	16,7
N. – Diagnostica Stago PTTA	31,4	378	41,9	5,4	12,9	379	1,33	0,16	12,2
O – Diagnostica Stago PTT-LA	33,0	23	47,1	9,7	20,6	34	1,65	0,37	22,6
P – Diagnostica Stago PTT-LT	31,3	289	46,2	6,0	13,0	292	1,49	0,19	12,9
U – IL TCA Silice	30,8	93	37,9	3,5	9,1	93	1,23	0,10	8,4
W – Ortho Thrombosil	29,9	52	36,1	4,1	11,5	52	1,20	0,12	9,6
X – Technique Biologique Auto CK	31,7	44	45,2	8,8	19,4	46	1,46	0,32	21,6
<b>Ensemble (tronqué)</b>		<b>2698</b>	<b>42,84</b>	<b>9,12</b>	<b>21,3</b>	<b>2641</b>	<b>1,36</b>	<b>0,27</b>	<b>19,8</b>

(\*Section de résultats après troncature  $m \pm 3 s$  ;  $R < 2,66$ )

**Interprétation du résultat du TCA**  
**Mélange "B3 + témoin"**

Interprétation	Nombre de Laboratoires	%	Moyenne du TCA du groupe
(2) TCA normal	348	13	34,4 sec.
(3) TCA allongé	256	10	44,6 sec.
(4) Suspicion d'ACC	1862	70	46,2 sec.
(5) Suspicion de déficit	190	7	36,4 sec.

**Tests de confirmation d'un anticoagulant circulant  
Plasma 94 B3**  
Réponses des participants (limitées aux ensembles cohérents)

Tests	Absence ACC	Douteux	Présence ACC	Taux de confirmation
Temps de thromboplastine diluée (tous réactifs)	73	56	380	75%
Temps de céphaline diluée	39	18	245	81%
Test au venin de Vipère Russel (exclusivement)	0	0	5	100%
Exclusivement réactif D. Stago PTT-LA	0	2	21	91%
Kaolin	1	2	12	80%
Exclusivement réactif Staclot LA	8	6	102	88%
Exclusivement réactif Staclot PNP	21	7	44	61%

Ces tableaux ne reprennent que les informations pour lesquelles le nom du test et le nom du réactif utilisé sont cohérents. Inversement, les informations témoignant manifestement d'une mauvaise compréhension des titres des tests n'ont pas été incluses.

**Temps de Thromboplastine diluée**

Marques des réactifs utilisés	Absence	Douteux	Présence
00/01 – "Autres" et "Absence d'information"	10	4	28
02 – Baxter Dade C	1	0	0
03 – Baxter Dade IS	0	1	5
04 – Behring Thromborel	1	4	27
05 – bioMérieux Thrombomat	18	8	101
06 – Diagnostica Stago Néoplastine	22	15	88
07 – Akzo Organon Teknika Simplastin Excel	1	1	4
08 – Akzo Organon Teknika Simplastin Excel S	0	2	1
10 – Ortho OBT	0	0	2
11 – Technique Biologique TB Plastine	2	2	4
12 – Thromboplastine IL	8	8	18
13 – Diagnostica Stago Néoplastine CI	10	10	96
14 – Diagnostica Stago Néoplastine CI plus	0	1	6
<b>Total</b>	73	56	380

**Temps de Céphaline diluée**

Marques des réactifs utilisés	Absence	Douteux	Présence
00/01 – "Autres" et "Absence d'information"	5	1	14
02 – Akzo Organon Teknika aAPTT	1	2	15
03 – Akzo Organon Teknika Platelin	0	0	3
04 – Akzo Organon Teknika Platelin LS	0	0	1
05 – Baxter Dade Actine	1	0	1
06 – Baxter Dade Actin FS	1	0	2
07 – Baxter Dade Actin FSL	0	0	5
08 – Behring Pathromtin	0	0	1
09 – bioMérieux Actimat	5	0	7
10 – bioMérieux Céphalite	1	1	2
11 – bioMérieux Silimat	3	2	39
12 – Diagnostica Stago CK Prest	15	3	25
13 – Diagnostica Stago PTTA	1	6	33
14 – Diagnostica Stago PTT-LA	0	1	63
15 – Diagnostica Stago PTT-LT	2	1	22
20 – IL TCA Silice	2	0	10
22 – Ortho Thrombosil	1	1	1
23 – Technique Biologique Auto CK	1	0	1
<b>Total</b>	<b>39</b>	<b>18</b>	<b>245</b>

**Test au venin de vipère Russel dilué**

Réactif utilisé	Absence	Douteux	Présence
24 – Venin de vipère Russel	0	0	5

**Test de Céphaline Concentrée**

Réactif utilisé	Absence	Douteux	Présence
14 – D. Stago PTT-LA	0	2	21

**Test de Kaolin**

Réactif utilisé	Absence	Douteux	Présence
21 - Kaolin	1	2	12

**Staclot LA (Lupus Anticoagulant)**

Marques des réactifs utilisés	Absence	Douteux	Présence
17 – Diagnostica Stago Staclot LA	8	6	102



#### Staclot PNP (Procédure de neutralisation des Plaquettes)

Marques des réactifs utilisés	Absence	Douteux	Présence
18 - Diagnostica Stago Staclot PNP	21	7	44

### Compréhension du questionnaire, cohérence des réponses et prise en compte des informations

Le questionnaire "tests de confirmation des ACC" était inhabituel puisque nouveau pour les participants. La cohérence entre titres des "tests de confirmation" et "réactifs signalés" a été examinée attentivement lors de l'exploitation des résultats. Seuls ont été pris en compte pour les tableaux les ensembles pour lesquels le titre du test et le ou les réactifs signalés étaient cohérents.

Ainsi, pour le "Test au Kaolin", seules les réponses réactif Kaolin ont été prises en compte.

De nombreux laboratoires ont signalé à ce niveau l'emploi d'un réactif complexe incluant du Kaolin, comme le CK Prest Stago, ce qui ne correspondait pas aux informations attendues dans cette zone.

De même, la zone "temps de Céphaline concentrée" n'était prévue que pour permettre le recueil d'un TCA obtenu avec un réactif distinct de celui utilisé en première intention, pas forcément cité dans la zone TCA et plus concentré en phospholipides.

Les informations correspondants à des réactifs différents de ceux du TCA B3 étaient attendues. Seule la ligne (14) Stago PTT-LA comportait des informations significatives avec 2 réponses douteuses et 21 confirmations d'ACC.

Pour 12 autres laboratoires, cette zone a recueilli des informations réactif différentes de celles déjà recueillies.

Pour 52 laboratoires, le signalement du même réactif pour le "TCA B3" et le test "Céphaline concentrée" témoigne d'une mauvaise compréhension d'une question insuffisamment explicite.

### Choix du réactif Céphaline selon le but du test C'est-à-dire l'orientation clinique.

Pour dépister un déficit, le réactif le plus sensible reste le CK Prest.

Pour dépister un ACC, le réactif PTT-LA mérite d'être utilisé en première intention.

Pour adapter un traitement à l'héparine, un activateur Silice est recommandé.

Chaque fois que le même et unique réactif sera utilisé dans ces trois indications, le choix de ce réactif ne pourra pas être satisfaisant pour les trois. On raccourcira les zones de normalité d'un réactif Silice pour éviter de méconnaître des déficits en facteur de la voie endogène.

A.F.G.



# ■ COMMENTAIRES SUR LES RESULTATS DES PARTICIPANTS ■

## ETALONORME 94 B3

### Dépistage et confirmation d'un anticoagulant circulant

J. ROUSSI et A. GOGUEL

#### ■ I. DEPISTAGE DE L'ANTICOAGULANT CIRCULANT

##### I.1. Moyenne des "Temps de Céphaline + Activateur" de B3 et du mélange "B3 + plasma normal".

Quatre mille vingt neuf laboratoires ont donné les résultats du TCA du témoin local et de l'échantillon B3 : le temps de B3 est nettement allongé par rapport à celui du témoin (45/31 secondes) et le rapport de coagulation M/T élevé à 1,44 (valeur normale < 1,2) (Tableau I)

Deux mille six cent quatre vingt treize laboratoires, soit 67%, effectuent le test de correction par apport de plasma normal, c'est-à-dire le TCA sur le mélange à parties égales de B3 et de plasma normal (PN).

L'apport de PN ne corrige pas l'allongement du TCA de B3 puisque  $(B3 + PN)/T = 1,42$  ; ceci permet donc de suspecter la présence d'un anticoagulant circulant (Tableau I).

Les résultats peuvent être aussi exprimés sous forme d'un index calculé selon la formule suivante :

$$\text{Index de Rosner} : [( \text{Temps du Mélange} - \text{Temps du Plasma Normal} ) / \text{Temps de B3}] \times 100$$

$$\text{soit } [(44,58 - 31,2) / 45,2] \times 100 = 29,6$$

Le test est **positif** si cet index est supérieur ou égal à 15.

**Tableau I : Etalonorme 94 B3 - Résultats interlaboratoires**

Echantillon	Nombre de Réponses	TCA secondes	Nombres de Réponses	TCA Ratio
PN	4029	31,2		
B3	4029	45,2	4018	1,44
Mélange B3+PN	2698	42,84	2641	1,36

PN = Plasma Normal

Ratio = Temps de B3 / Temps du Témoin ou (Temps du mélange B3 + PN) / Temps de Témoin

##### I.2. Interprétation du résultat du TCA du "Mélange B3 + PN"

La réponse "interprétation du TCA du mélange B3 + témoin" a été fournie par 2666 laboratoires alors que le résultat chiffré du TCA "B3 + témoin" a été noté par 2517 laboratoires.

La majorité des biologistes (70%) ayant répondu à la rubrique "interprétation" suspecte la présence d'un ACC.

10% des laboratoires se contentent du diagnostic "TCA allongé".

190 laboratoires, soit 7 %, soupçonnent un déficit en facteurs de coagulation. Dans ces laboratoires, le TCA du B3 + PN est normal ; il ne s'agit pas d'une erreur d'interprétation, il s'agit d'un TCA faussement normal.

13% des laboratoires (348 laboratoires) ne détectent pas d'allongement du TCA, donc ne suspectent pas d'anticoagulant circulant.

**Tableau II : Etalonorme 94 B3 - Résultats interlaboratoires**

Interprétation	Nombre de Réponses (2656)	%	TCA du mélange B3 + PN
Suspicion ACC	1862	70	46,2
TCA normal	348	13	34,4
TCA allongé	256	10	44,6
Suspicion déficit	190	7	36,4

### I.3. Sensibilité des différents réactifs "Céphaline + Activateur"

1079 soit 26% des laboratoires utilisent le CK Prest D. Stago dont l'activateur est le Kaolin ; avec ce réactif le TCA de B3 est à peine allongé  $R = 1,24$ . Il en est de même pour le TCA effectué avec l'Actin FS (Baxter Dade)  $R = 1,22$ .

La faible sensibilité de ces réactifs se répercute sur le test de correction par le témoin ; le TCA moyen obtenu sur le mélange B3 + Plasma normal est à la limite supérieure de la normale  $R = 1,21$ .

De ce fait, dans le groupe CK Prest se trouve la plus grande proportion de fausses réponses : 227 laboratoires/633 considèrent le TCA comme normal.

Dans les autres groupes utilisant les autres céphalines à activateur liquide (silice ou acide ellagique), le TCA est nettement allongé et le nombre de réponses fausses (TCA normal) est faible.

On doit noter de plus des erreurs d'interprétation, 7% des participants suspectent un déficit en facteurs de coagulation.

Le tableau précédent TCA "B3 + Témoin" a été préparé en utilisant la procédure statistique habituelle de troncature à  $m \pm 3 s$ , au niveau ensemble des résultats. On peut se demander si cette troncature n'est pas trop brutale et surtout si elle élimine des résultats aberrants correspondant de manière aléatoire à différents réactifs, ou si elle élimine tout particulièrement des résultats correspondant prioritairement à certains réactifs. On trouvera dans le tableau III ci-après la moyenne des R.TCA (M+T)/T sans troncature.

**Tableau III : Etalonorme 94 B3 - Résultats interlaboratoires  
R. TCA (B3 + T)/T - Index de Rosner - Réponses à l'enquête**

Réactif	R TCA (B3 + T)/T	Index de Rosner	TCA Nombre de Réponses			
			TCA normal	TCA allongé	Suspicion ACC	Suspicion déficit
AAPTT (Silice)	1,39	28	7	5	158	3
Actimat (Ac. Ellagique)	1,43	29	20	22	135	26
Silimat (Silice)	1,68	39	6	53	394	28
CK Prest (Kaolin)	1,21	17	227	66	281	59
PTTA (Silice)	1,37	26	21	34	310	18
PTT-LT (Silice)	1,56	36	3	25	262	8
IL TCA (silice)	1,23	18	6	8	72	7

CK Prest, PTTA, PTT-LT = Diagnostica Stago  
Silimat, Actimat = bioMerieux  
aAPTT = Akzo Organon Teknika  
IL TCA Silice = Instrumentation Laboratory

\* Ce tableau part des données brutes,  
avant troncature.

## II. TEST DE CONFIRMATION D'UN ANTICOAGULANT CIRCULANT

19% des participants ont fourni des réponses pour les tests de confirmation de l'ACC. Nous avons noté 1315 réponses qui correspondent à 830 laboratoires ; en effet d'assez nombreux laboratoires ont effectué plusieurs tests. Mais certaines de ces réponses témoignent d'une mauvaise interprétation des noms de certains tests et seront discutées plus loin.

Le test le plus réalisé est le Temps de Thromboplastine diluée (TTD) (509 réponses) ; il est positif dans 75% des cas, deux thromboplastines sont très utilisées : le Thrombomat (bioMérieux) et la Néoplastine (Néoplastine, Néoplastine CI, D. Stago). Dans les groupes Thrombomat et Néoplastine, respectivement 14% et 13% des utilisateurs ne détectent pas l'ACC.

Les tests utilisant des phospholipides (PL) concentrés sont encore assez peu utilisés. Le Staclot LA, test de neutralisation par des PL purifiés en phase hexagonale est positif dans 88% des cas, alors que le Staclot PNP utilisant la procédure de neutralisation des plaquettes donne 61% de réponses positives.

Le temps de Kaolin et le test au Venin de vipère Russel sont très peu utilisés, malgré leur recommandation au niveau international.

**Tableau IV : Etalonorme 94 B3 - Résultats interlaboratoires**

Tests	Nombre total	Absence ACC	Douteux	Présence ACC	Taux de confirmation
Temps de thromboplastine diluée	509	73	56	380	75%
Staclot LA	116	8	6	102	88%
Staclot PNP	72	21	7	44	61%
Temps de Kaolin	15	1	2	12	80%
Test au Venin de Vipère Russel	5	0	0	5	100%

### III. CONCLUSION

Les résultats intra et interlaboratoires des tests d'hémostase effectués sur l'échantillon B3 mettent en évidence un anticoagulant circulant de type antiphospholipide (Lupus Anticoagulant).

Cet ACC est suspecté par l'allongement du TCA plus que par l'allongement du TQ. Les différents réactifs "Céphaline + Activateur" ont une sensibilité différente vis à vis de cet ACC ; un des réactifs les plus utilisés en France, le CK Prest, dont l'activateur est le kaolin, détecte mal l'anomalie.

L'allongement du TCA persiste sur le mélange à parties égales de B3 et de plasma normal. Ceci prouve qu'il existe dans B3 une substance inhibant la coagulation du plasma normal donc un anticoagulant circulant. S'il y avait eu déficit d'un facteur de coagulation, le TCA du mélange aurait été corrigé par le plasma normal. Ce test de mélange n'a été réalisé que par 60% des participants.

La présence d'un anticoagulant thérapeutique telle l'héparine non fractionnée ne pouvait être évoquée puisqu'il était dit dans la présentation de la confrontation que le temps de Thrombine de B3 était normal.

Le diagnostic d'ACC est fait par 70% des biologistes qui ont réalisé le TCA du mélange B3 + plasma normal.

Les erreurs de diagnostic (20%) telle TCA normal ou suspicion de déficit ne sont pas des erreurs d'interprétation des résultats puisque, dans ces 2 groupes, les moyennes des TCA du mélange B3 + Plasma normal sont dans les zones de normalité.

Ces erreurs sont nombreuses dans le groupe "CK Prest" ce qui correspond à la mauvaise sensibilité du kaolin aux ACC.

Très peu de laboratoires effectuent les tests spécifiques d'étude d'un ACC, tests à base de phospholipides dilués ou concentrés. Seuls les laboratoires spécialisés les réalisent. Dans cette confrontation, la sensibilité du Temps de Thromboplastine diluée ou du Staclot LA ne dépasse pas 80%. Les autres tests recommandés dans la littérature ne sont pas utilisés.



## ANTICOAGULANTS CIRCULANTS DE TYPE LUPIQUE :

### Le point de vue du biologiste

J. ROUSSE

Les Anticoagulants circulants (ACC) de type lupique (LA : lupus anticoagulant), les anticorps anti-cardiolipine (aCL), appartiennent à un groupe hétérogène d'anticorps antiphospholipides (aPL) présentant une réactivité avec les phospholipides de type anioniques (chargés négativement). Les aCL sont mis en évidence par méthode immunologique, les LA sont détectés sur un allongement des tests de coagulation.

Les Anticorps anti-Phospholipides ont été découverts il y a 90 ans mais leur détection, leur physiopathologie, leurs complications et leur traitement posent encore des questions non élucidées. Ils se rencontrent avec une fréquence élevée au cours du Lupus Erythémateux Disséminé, des affections auto-immunes, mais peuvent aussi être détectés chez des patients ne présentant aucune autre pathologie. Ils sont fréquemment associés à des complications thromboemboliques artérielles et/ou veineuses, des thrombopénies et des avortements, exceptionnellement à un syndrome hémorragique.

Chez un même patient, on peut détecter les 2 types d'anticorps, LA et aCL, mais ces deux activités peuvent être dissociées ; parmi tous les patients présentant des tests positifs soit aCL soit LA, environ 60% seulement sont positifs pour les deux.

Les aCL sont en fait dirigés contre un complexe constitué de Phospholipides anioniques et d'un cofacteur la 2 Glycoprotéine I (2GP1) ou apolipoprotéine H, alors que les LA sont principalement dirigés contre le complexe Phospholipide-Prothrombine ou un complexe Phospholipide-facteur de coagulation.

Les aCL sont détectés par méthode immunologique de type «ELISA» ; les LA le sont par méthode de coagulation ; en effet, ils prolongent le temps des tests de coagulation réalisés avec des phospholipides (exemple Temps de Céphaline + Activateur [TCA], Temps de Quick [TQ]).

Triplet a récemment établi la liste des techniques utilisées pour le diagnostic biologique des anticorps de type antiphospholipides, aCL ou LA. Les méthodes de détection des aCL par méthode ELISA paraissent mieux standardisées, mais de nombreux problèmes persistent ainsi que des différences entre les trousses commercialisées. Les méthodes de coagulation permettant le dépistage des LA sont nombreuses, assez mal standardisées, utilisent des réactifs phospholipidiques de sensibilité différente ce qui entraîne parfois des discordances entre les résultats obtenus sur le même plasma par deux techniques différentes et la nécessité d'effectuer plusieurs tests sur le même échantillon de plasma.

C'est pourquoi nous avons organisé la confrontation inter laboratoire Etalonorme 94B car il nous a semblé utile de répertorier et de tester la sensibilité des différentes méthodes de coagulation utilisées en France par les 4500 laboratoires pour détecter les LA, ainsi que de sensibiliser les participants de ces confrontations à cet important problème.

## I. TESTS BIOLOGIQUES DE DETECTION DES ANTICOAGULANTS CIRCULANTS DE TYPE LUPIQUE

La recherche d'anticoagulant circulant doit être effectuée sur du plasma citraté (sang recueilli sur citrate de Sodium 0,129M, 1 vol/9 vol), parfaitement déplaqué (double centrifugation à haute vitesse 4000 g pendant 20 minutes), frais ou congelé (-80°C).

### I.1. Les recommandations internationales sur les étapes nécessaires au diagnostic de LA sont les suivantes :

- \* Etablir qu'il existe une anomalie dans les réactions de coagulation utilisant des phospholipides.
- \* Démontrer que l'anomalie est provoquée par un inhibiteur et non par un déficit en facteur de coagulation.
- \* Eliminer la présence d'une thérapeutique anticoagulante en particulier d'héparine.
- \* Prouver que l'inhibiteur est dirigé contre les phospholipides plutôt que contre un facteur de coagulation.

## I.2. En pratique courante

### *a : Etablir qu'il existe une anomalie dans les réactions de coagulation utilisant des phospholipides.*

Cette étape primordiale correspond à la découverte d'un allongement du TQ et/ou du TCA sans explication évidente telle la prise d'un traitement anticoagulant oral par antivitamine K ou héparine non fractionnée ou une insuffisance hépatocellulaire ou un syndrome de consommation (etc) bien qu'un LA puisse être présent dans chacun de ces cas.

A ce niveau des différences de sensibilité sont évidentes selon le test et le réactif utilisés.

→ Globalement, le TCA est souvent plus allongé que le TQ.

→ Concernant le TCA :

- \* les résultats varient selon les temps d'incubation du plasma et du mélange Céphaline + Activateur avant l'adjonction de Chlorure de Calcium. Un test récemment publié (5) tire avantage de ce phénomène ; en effet il est proposé d'effectuer avec le réactif APTT (Organon Teknika) sur deux échantillons du même plasma deux TCA, l'un (TCA1) avec une incubation de 1 minute à 37° du plasma et de la céphaline + activateur, l'autre (TCA10) avec une incubation de 10 minutes. Si la différence TCA1-TCA10 est supérieure à 11 secondes, on doit suspecter un LA ; cependant ce test n'a été validé qu'avec l'APTT et les autres céphalines n'ont pas été testées.

- \* tous les réactifs Céphaline + Activateur commerciaux n'ont pas la même sensibilité envers les anticoagulants de type lupique ; cette différence de sensibilité est fonction de l'activateur (le Kaolin est le moins sensible des activateurs) et du type et de la concentration de phospholipides contenus dans la céphaline. Certains fabricants proposent des céphalines sensibilisées, à utiliser pour la détection des anticoagulants circulants et non pour l'exercice quotidien du laboratoire (PTT LA, Diagnostica Stago).

Ceci est parfaitement illustré par les résultats interlaboratoires de la confrontation Etalonorme 94 B3.

### *b : Démontrer que l'anomalie est provoquée par un inhibiteur et non par un déficit en facteur de coagulation (Test M + T).*

Pour démontrer qu'un inhibiteur et non un déficit en facteur de coagulation est responsable de l'allongement du TCA et/ou du TQ, il est indispensable de prouver la non-corrrection de l'allongement par apport de plasma normal, en d'autres termes d'effectuer un TCA et/ou un TQ sur un mélange de plasma normal (Témoin = T) et de plasma du patient suspect de LA (Malade = M).

S'il s'agit d'un inhibiteur, le TCA et/ou le TQ du mélange restera allongé alors qu'en cas de déficit, le TCA et/ou le TQ du mélange sera corrigé, le plasma témoin ayant apporté le facteur déficitaire. Il n'est pas nécessaire d'incuber les 2 plasmas à 37° avant l'adjonction des réactifs.

Le seuil de détection dépend de la puissance de l'anticoagulant circulant Classiquement il est recommandé d'effectuer un mélange à parties égales de pool de plasma normal et de plasma à tester mais, si l'allongement initial du TCA du plasma à tester est peu important et que l'on suspecte un inhibiteur de titre peu élevé, on peut effectuer un mélange avec 2 volumes de plasma à tester pour un volume de plasma normal.

Le test sera positif si :

$$\frac{[\text{Temps du Mélange (M + T)} - \text{Temps du Témoin}]}{\text{Temps du Malade}} \times 100 > 15$$

NB : en cas d'utilisation de l'aPTT (Organon Teknika)

Cette formule correspond à l'index de Rosner.

### *c : Prouver que l'inhibiteur est dirigé contre les phospholipides plutôt que contre un facteur de coagulation.*

Plusieurs tests sont utilisés pour résoudre cette étape ; ils répondent aux deux principes suivants :

- \* soit la mise en évidence de l'effet inhibiteur dans un système de phospholipides dilués
- \* soit la neutralisation de l'effet inhibiteur par des phospholipides concentrés
- \* mise en évidence de l'effet inhibiteur dans un système de phospholipides dilués

En France, le test le plus utilisé et recommandé par le Groupe d'Etude d'Hémostase et Thrombose est le **Test de Thromboplastine diluée (TTD)** en utilisant la thromboplastine Thromborel (Laboratoire Behring) diluée au 1/500 en CaCl<sub>2</sub> 25mM. Comme précédemment, le test (0,1 ml de plasma + 0,2 ml de thromboplastine diluée) sera fait sur un pool de plasma normal, sur le plasma du patient et sur le mélange 1/1 M/T.



Le test sera positif si le rapport  
Temps du Mélange (M + T) > 1,15  
Temps du Témoin

*\* neutralisation de l'effet inhibiteur par des phospholipides concentrés*

Deux tests sont disponibles sur le marché français, commercialisés par la Société Diagnostica Stago, présentés sous forme de kits prêts à l'emploi et à réaliser selon les instructions du fabricant.

- le **Staclot LA** est un test de neutralisation par phospholipides purifiés en phase hexagonale ; en effet les anticoagulants circulants antiphospholipides de type lupique reconnaissent les molécules de phosphatidyléthanolamine sous forme hexagonale et l'apport de ces molécules corrige l'allongement du TCA. Les résultats sont exprimés par la différence de temps de coagulation entre le test contrôle t1 et le test en présence de phospholipides t2.

Le test est positif si la différence t1-t2>8 secondes.

- le **Staclot PNP** permet la mise en évidence des anticoagulants de type lupique selon la Procédure de Neutralisation des Plaquettes. Ce test est basé sur la correction d'un TCA par l'adjonction d'un lysat plaquettaire correspondant aux phospholipides. Les résultats sont exprimés par la différence de temps de coagulation entre le test contrôle t1 et le test en présence de lysat plaquettaire t2.

Le test est positif si la différence t1-t2>8secondes.

### **I.3. Autres tests**

L'emploi de 2 autres tests, déplétés en phospholipides ou en extrait plaquettaire est recommandé par le "SSC Subcommittee for the Standardization of Lupus Anticoagulants" de l'"International Society on Thrombosis and Haemostasis", le Temps de Kaolin (KCT) et le test utilisant le venin de vipère Russel dilué (DRVVT). Ces 2 tests sont réputés plus sensibles et plus spécifiques que le TCA mais ne sont qu'exceptionnellement utilisés en France. D'autres venins ont aussi été proposés (Venin de vipère Taïpan, la Textarin et l'Ecarin).

### **I.4. Eliminer un déficit spécifique en un facteur de coagulation**

La présence d'un ACC de type lupique peut perturber artificiellement le dosage des facteurs de la voie endogène (VIII, IX, XI, XII) ; dans ce cas, la droite d'étalonnage effectuée sur le pool normal et la droite reliant les différentes dilutions effectuées sur le plasma contenant le LA ne seront pas parallèles et le taux du facteur concerné tendra à se normaliser en fonction de l'augmentation de la dilution du plasma.

### **I.5. Au total**

Cette procédure standardisée et rigoureuse est à suivre pour mettre en évidence un ACC de type lupique et permet la détection de 90% des LA. Sur le même plasma contenant un LA, il est fréquent d'observer la positivité de certains tests effectués alors que d'autres sont négatifs, ceci en raison de l'hétérogénéité des LA, de leur comportement différent dans les différents systèmes et de la sensibilité variable des réactifs utilisés. La positivité d'un seul des 3 tests, test de correction du TCA, temps de thromboplastine diluée, test de neutralisation (Staclot LA) indique la présence d'un LA

## **II ANTICORPS ANTIPHOSPHOLIPIDES ET COMPLICATIONS THROMBOTIQUES : CAUSE OU CONSEQUENCE ? MECANISMES PATHOGENIQUES**

Les patients porteurs d'un anticorps antiphospholipide, LA et/ou aCL, présentent fréquemment des complications thromboemboliques artérielles ou veineuses et/ou des avortements à répétition, exceptionnellement des manifestations hémorragiques.

Les manifestations thrombotiques associées à la présence d'un anticorps antiphospholipide ont été reconnues dès 1963 avec une prévalence d'environ 25% qu'il s'agisse d'un LA ou d'un aCL ou des deux et que le patient présente ou non un Lupus érythémateux.

La fréquence des complications obstétricales chez les femmes porteuses d'un anticorps antiphospholipide est élevée, 90% selon Lechner ; plus récemment, une étude a été réalisée sur 42 femmes atteintes de lupus ; parmi elles 18 avaient eu un avortement, 11 un seul avortement, 7 des avortements à répétition. Toutes les femmes ayant eu des pertes fœtales avaient toutes un aPL. Une autre étude a permis de mettre en évidence dans le plasma des femmes présentant un anticorps anti-cardiolipine associé à des pertes fœtales des anticorps anti-thromboplastines, sérologiquement distincts des anti cardiolipine.

Le mécanisme pathogénique responsable de l'association anticorps antiphospholipides et thrombose ou perte fœtale n'est sûrement pas unique et demeure, malgré de nombreux travaux, incertain.

Les différentes hypothèses formulées sont les suivantes :

- \* action sur la cellule endothéliale et sur la production et la libération de prostacycline
- \* interférence avec la régulation du système Protéine C-Protéine S, inhibition de l'action de la Protéine anticoagulante placentaire 1 (PAP1)
- \* lésion et activation de la cellule endothéliale avec augmentation de la production de facteur tissulaire
- \* activation des plaquettes par les anticorps
- \* défaut d'activation de la voie de la fibrinolyse avec soit diminution de synthèse et/ou de libération de l'activateur tissulaire du plasminogène soit augmentation de la concentration des inhibiteurs de l'activateur tissulaire du plasminogène
- \* interférence avec l'activité de l'Antithrombine III.

Plus récemment, il a été montré que les patients porteurs d'un anticorps antiphospholipide avaient dans leur plasma des taux très élevés de fragments 1 + 2 de la Prothrombine (F1 + 2) et de Fibrinopeptide A (FPA) témoignant d'une activité de la thrombine "*in vivo*", prouvant donc que ces patients étaient dans un état prothrombotique permanent. Pourquoi et comment y a-t-il une activité Thrombine chez de tels patients? Shibata et col viennent de démontrer que les immunoglobulines à activité anti-cardiolipine purifiées chez les patients présentant le syndrome des antiphospholipides se liaient à l'héparine et particulièrement à un disaccharide présent dans la région de l'héparine ou de l'héparan-sulfate reconnue par l'Antithrombine III (ATIII) et que les anticorps aCL/Héparine inhibaient "*in vitro*" la formation des complexes Thrombine-Antithrombine.

Au total, les anticorps antiphospholipides n'interfèrent pas seulement avec les réactions dépendantes des phospholipides mais induisent ou potentialisent des activités prothrombotiques de l'endothélium, activent les plaquettes, présentent une activité anti-héparine et peuvent inhiber la formation des complexes Thrombine-Antithrombine.

---

## BIBLIOGRAPHIE

---

- 1- Bowie EJW, Thompson JH, Pascuzzi CA, Owen CA : Thrombosis in SLE despite circulating anticoagulants. J. Lab. Clin. Med., 1963, 62:416.
- 2- Carreras LO, Machin SJ, Deman R, Defreyn G, Vermeylen J, Spitz B, Van Assche A : Arterial thrombosis, intrauterine death, and lupus anticoagulant : Detection of immunoglobulin interfering with prostacyclin formation. Lancet, 1981, 1:244.
- 3- Cervera R, Khamashta MA, Font J, Ramirez G, D'CruzD, Motalbam J, Lopez-SotoA, Asherson RA, Ingelmo M, Hughes GRV : Antiendothelial cell antibodies in patients with the antiphospholipid syndrome, Autoimmunity, 1991, 11:1.
- 4- Cosgriff PM, Martin BA : Low functional and high antigenic antithrombin III level in a patient with the lupus anticoagulant and recurrent thrombosis. Arthritis Rheum, 1981, 24:94.
- 5- Escolar G, Font J, Reverter JC, Lopez-Soto A, Garrido M, Cervera R, Ingelmo M, Castillo R, Ordinas A : Plasma from systemic lupus erythematosus patients with antiphospholipid antibodies promotes platelet aggregation. Arterioscler Thromb, 1992, 12:196.
- 6- Exner T, Triplett DA, Taberner D, Machin SJ : Guidelines for testing and revised criteria for lupus anticoagulants. SSC subcommittee for the standardization of lupus anticoagulant. Thromb. Haemost., 1991, 65:320.
- 7- Freyssinet JM, Cazenave JP : Lupus like anticoagulants -Modulation of the protein C pathway and thrombosis. Thromb Haemost, 1987, 58:679.
- 8- Hemostasis committee of the Société Française de Biologie Clinique : Laboratory heterogeneity of the lupus anticoagulant : a multicentre study using different clotting assays on a panel of 78 samples. Thromb Res, 1992, 66:349.
- 9- Ginsberg JS, Brill-Edwards P, Johnston M, Denburg JA, Andrew M, Burrows R, Bensen W, Cividino A, Long AA : Relationship of antiphospholipid antibodies to pregnancy loss in patients with systemic lupus erythematosus : a cross-sectionnal study. Blood, 1992, 80:975.

- 10- Ginsberg JS, Demers C, Brill-Edwards P, Johnston M, Bona R, Burrows RF, Weitz J, Denburg JA : Increased thrombin generation and activity in patients with systemic lupus erythematosus and anticardiolipin antibodies : Evidence for a prethrombotic state. *Blood*, 1993, 81:2958.
- 11- Keeling DM, Campbell SJ, Mackie IJ, Machin SJ, Isenberg DA : The fibrinolytic response to venous occlusion and natural anticoagulants in patients with antiphospholipid antibodies both with and without systemic lupus erythematosus. *Br J Haematol*, 1991, 77:354.
- 12- Lechner K : Lupus anticoagulants and thrombosis. In Verstraete M, Vermeylen J, Lijnen HR, Arnout J (eds). *International Society on Thrombosis and Haemostasis and Leuven University Press. Leuven. 1987:525.*
- 13- Love PE, Santoro SA : Antiphospholipin antibodies : anticardiolipin and the lupus anticoagulant in systemic lupus erythematosus (SLE) and in non SLE disorders. *Ann. Intern. Med.*, 1990, 112:682.
- 14- Lupus Anticoagulant Working Party on behalf of the BCSH Haemostasis and Thrombosis Task Force : Guidelines on testing for the lupus anticoagulant. *J. Clin. Pathol.*, 1991, 44:885.
- 15- McCrae KR, DeMichele AM, Pandhi P, Balsai MJ, Samuels P, Graham C, Lala PK, Cines DB : Detection of antitrophoblast antibodies in the sera of patients with anticardiolipin antibodies and fetal loss. *Blood*, 1993, 82:2730.
- 16- Robert A : Two different incubation times for the Activated Partial Thromboplastin Time (APTT) : a new criterion for diagnosis of lupus anticoagulant, *Thromb. Haemost.*, 1994, 71:220.
- 17- Sammaritano LR, Gharavi AE, Soberano C, Levy RA, Lockshin MD : Phospholipid binding of antiphospholipid antibodies and placental anticoagulant protein, *J Clin Immunol*, 1992, 12:27.
- 18- Santoro SA : Antiphospholipid antibodies and thrombotic predisposition : underlying pathogenetic mechanisms. *Blood*, 1994, 83:2389.
- 19- Shibita S, Harpel PC, Gharavi A, Rand J, Fillit H : Autoantibodies to Heparin from patients with antiphospholipid antibody syndrome inhibit formation of Antithrombin III-Thrombin complexes. *Blood*, 1994, 83, 2532.
- 20- Stoecker ZM, Mozes E, Tartakovsky B : Anti-cardiolipin antibodies induce pregnancy failure by impairing embryonic implantation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993,90:64.
- 21- Wasserman, Neisser. Syphilis test involving antibodies against phospholipids. *Deutsche Medizinische Wochenschrift*, 1906.



# LE DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DES ANTICOAGULANTS CIRCULANTS DE TYPE LUPIQUE EN 1994

P SIE

Un contrôle de qualité national a inclus en 1994 pour la première fois en France un échantillon de plasma contenant un anticoagulant circulant dit de "type lupique". Les résultats du contrôle et de l'enquête sur les pratiques des laboratoires participants sont analysés ailleurs dans cet ouvrage. Le choix de cette pathologie comme objet de contrôle est significatif de l'importance que prend la recherche des anticoagulants lupiques dans l'activité d'un laboratoire d'hématologie, même non spécialisé en hémostase.

La demande en effet est croissante depuis que l'on a pu démontrer que ces anticoagulants sont un facteur de thrombose au cours de la maladie lupique et des pathologies apparentées. En outre, les anticoagulants de ce type sont l'élément biologique d'un syndrome relativement fréquent, d'individualisation récente, appelé syndrome des antiphospholipides, qui peut se rencontrer en dehors de toute maladie définie.

D'autres méthodes que les méthodes de coagulation ont été développées pour rechercher des anticorps antiphospholipides. Il s'agit d'immuno-essais en phase solide de type ELISA. Ces méthodes souffrent elles-mêmes d'un défaut de standardisation et rien n'indique que les anticorps détectés par ces méthodes soient, pour le clinicien, plus significatifs que ceux révélés par les tests d'hémostase.

Les biologistes ont longtemps considéré les anticoagulants circulants comme une anomalie sans importance clinique et dans un premier temps, cet accroissement de demande a pu les dérouter. Il s'agit en fait d'un diagnostic réellement difficile. Un comité international de standardisation mis en place en 1987 a organisé plusieurs essais et en fonction des résultats de ceux-ci et des études publiées dans la littérature, le comité émet des recommandations régulièrement mises à jour (1,2). Les travaux réalisés en France sous l'égide de la Société Française de Biologie Clinique et du Groupe d'Etudes sur l'Hémostase et la Thrombose, en liaison avec le comité international de standardisation ont contribué à cette avancée méthodologique (3-5). Il devient maintenant possible de répondre précisément aux questions pratiques que se posent les biologistes. Ceci est l'objet de la présente mise au point.

## 1 Qu'est-ce qu'un anticoagulant circulant de type lupique ?

Un anticoagulant circulant de type lupique (LA) est un auto-anticorps qui interfère avec les étapes de l'hémostase dépendant des phospholipides. Les LA appartiennent à une famille d'anticorps appelés "antiphospholipides", qui ont en commun d'être révélés par des tests de laboratoire où interviennent des phospholipides, qu'il s'agisse de tests de coagulation, de réactions d'agglutination (VDRL) ou d'immuno-essais en phase solide.

Ces anticoagulants se distinguent donc fondamentalement des anticorps dirigés contre l'un ou l'autre des facteurs de la coagulation, qui peuvent apparaître à la suite d'une immunisation chez un sujet déficitaire substitué (allo-anticorps) ou au cours de maladies auto-immunes (auto-anticorps)

## 2 Est-ce que les anticoagulants lupiques sont identiques d'un patient à l'autre ?

Non, les LA sont des mélanges d'anticorps de spécificité antigénique, d'affinité et d'avidité différentes, en proportion variable suivant les malades. Ceci explique que les allongements des différents tests d'hémostase utilisés pour les mettre en évidence ne soient pas comparables d'un plasma à un autre. Cette hétérogénéité biologique fait la difficulté du diagnostic.

## 3 Dans quelles circonstances le biologiste est-il conduit à rechercher un LA ?

La question est posée dans deux circonstances bien différentes :

- Il peut s'agir d'une demande spécifique du clinicien devant un élément clinique de syndrome des antiphospholipides ou pour le suivi d'une maladie auto-immune. Logiquement, la recherche d'un LA doit toujours être associée à celle d'anticorps antiphospholipides par un immuno-essai en phase solide (voir question 25).

- Il peut s'agir d'un examen complémentaire pratiqué à l'initiative du biologiste devant un allongement "isolé" du temps de céphaline activateur (TCA), c'est-à-dire lorsque cet allongement est disproportionné par rapport aux résultats du temps de thrombine et du temps de Quick.

#### **4 Quelle est donc la conduite à tenir devant un allongement "isolé" du TCA ?**

Les possibilités diagnostiques sont soit un déficit en facteur de la voie dite endogène de la coagulation (VIII, IX, XI, XII, ou très rarement prékallikréine ou kininogène de haut poids moléculaire), soit la présence d'un inhibiteur de la coagulation autre que l'héparine puisque le temps de thrombine est normal.

L'épreuve de correction du TCA par le plasma témoin est la première épreuve à pratiquer. Schématiquement, si le TCA est corrigé, il s'agit d'un déficit en facteur. L'identification du déficit, sa quantification sont alors obligatoires. Si le TCA reste anormal, il s'agit d'un inhibiteur. L'identification de l'inhibiteur est alors la priorité. Dans certains cas cependant, on peut être amené à mesurer le taux des facteurs de la voie endogène même si le diagnostic de LA est établi (voir question 22).

#### **5 Comment réaliser une correction du TCA par le témoin**

L'épreuve consiste à mélanger le plasma du malade et un plasma normal et à mesurer en parallèle les TCA du malade, du plasma normal et du mélange. Un mélange volume à volume est habituellement réalisé. Certains préconisent d'utiliser des mélanges en proportion croissante de plasma normal mais l'avantage de cette procédure sur le mélange volume à volume n'est pas démontré.

Le TCA est la plupart du temps mesuré immédiatement après la réalisation du mélange. Il semble que certains LA soient mieux révélés après une incubation supplémentaire du mélange de 1h à 37°C. Cette modification technique n'a pas été retenue par les comités d'experts internationaux parce qu'elle n'augmente pas significativement le taux de détection des LA lorsqu'une combinaison de tests est mise en œuvre pour les révéler.

La qualité du plasma normal utilisé pour le mélange est très importante (Noir question 7).

#### **6 Le résultat de l'épreuve de correction du TCA par le témoin est-il facile à interpréter ?**

Le résultat est souvent difficile à interpréter. En théorie, en l'absence d'inhibiteurs le TCA du mélange devrait être ramené à une valeur se situant dans la zone normale pour la méthode utilisée.

En pratique, si le TCA du malade est très allongé, du fait d'un déficit profond en un ou plusieurs facteurs, le temps du mélange pourra être au-delà de la limite normale haute. A l'inverse si le TCA du malade est peu allongé, par le seul fait de diluer au demi l'inhibiteur dans le mélange, le temps du malade pourra être ramené dans la limite des valeurs normales.

Pour contourner cette difficulté, il est recommandé d'utiliser un indice de correction dont la formule est =  $\frac{\text{TCA du mélange} - \text{TCA du témoin}}{\text{TCA du malade} - \text{TCA du témoin}} \times 100$ . Un indice inférieur à 13 est en faveur d'un déficit. Un indice supérieur ou égal à 13 est en faveur d'un inhibiteur de type LA.

#### **7 Comment choisir le plasma témoin pour pratiquer cette correction ?**

Le plasma témoin peut être un plasma normal frais individuel ou, mieux, un mélange de plasmas normaux, frais ou congelés. Dans ce dernier cas les mêmes précautions que celles qui s'appliquent à la congélation du plasma du malade doivent être prises (voir question 17). Les plasmas normaux lyophilisés du commerce ne doivent pas être utilisés pour les épreuves de correction car ils contiennent souvent des débris plaquettaires. Il est important que le plasma témoin soit parfaitement déplaqueté car s'il contient des débris plaquettaires capables de neutraliser le LA, l'épreuve de correction est systématiquement faussée.

#### **8 Lorsque la recherche de LA est effectuée à la demande du clinicien, peut-on écarter le diagnostic si le TCA est complètement normal ?**

En aucun cas, puisque même en utilisant des réactifs réputés sensibles au LA, le taux de détection par le seul TCA n'excède pas 50-75%. La proportion de LA faibles non reconnus par le TCA est donc très élevée. Ceci résulte de l'hétérogénéité biologique des LA. Une combinaison de tests est donc nécessaire pour détecter ces anticorps avec le maximum de sensibilité. Néanmoins, le TCA sous réserve qu'il soit effectué à l'aide d'un réactif sensible aux LA est toujours l'un des éléments de cette combinaison parce qu'il est simple à réaliser et peu coûteux.

#### **9 Est-ce qu'il existe de réelles différences entre les réactifs de TCA pour la mise en évidence des LA ?**

Oui. Les fabricants proposent depuis peu des réactifs particuliers pour cette recherche qui sont réellement supérieurs aux réactifs usuels. Il faut bien remarquer que le critère de sensibilité doit être confronté au critère de spécificité car un

réactif qui ne permettrait pas de distinguer, lors de l'épreuve de correction, un inhibiteur d'un déficit en facteur ne serait pas d'une aide réelle pour le biologiste, même si sa sensibilité au LA était très élevée. On recommandera, sans prétendre être exhaustif mais parce qu'ils ont donné satisfaction à cet égard dans une récente étude multicentrique française, le PTT-LA de Stago, le SILIMAT de bioMérieux, le PLATELIN LS d'Organon Teknika.

#### **10 A t'on intérêt, pour la routine du laboratoire, à choisir un réactif de TCA très sensible au LA ?**

Cela n'est pas souhaitable car la détection de LA de titre faible, en dehors d'un contexte clinique précis, n'a que peu d'intérêt en soi. Elle est source d'examens supplémentaires pour le laboratoire, d'inquiétude pour le praticien et le patient, et désorganise inutilement un programme diagnostic ou thérapeutique. Il est donc préférable de continuer à utiliser un réactif "généraliste" et de réserver un réactif spécialisé pour la détection du TCA à ce seul objectif.

#### **11 Est-ce que certains LA prolongent le temps de Quick ?**

Bien que le temps de Quick soit un test où interviennent les phospholipides, il est peu sensible aux LA car les phospholipides sont apportés en large excès et donc neutralisent l'inhibiteur. Lorsque celui-ci est très puissant, cette neutralisation peut être incomplète et le temps de Quick s'allonge légèrement, mais il y a alors une discordance avec le TCA qui est, lui, très allongé. En revanche, chez certains patients le temps de Quick peut être long du fait d'un authentique déficit associé en prothrombine (facteur II). En effet, les LA s'accompagnent fréquemment d'anticorps antiprothrombine humaine, non neutralisants mais qui raccourcissent in vivo la durée de vie du facteur de coagulation. Le taux de facteur II, mesuré spécifiquement à l'aide d'un plasma déficient est alors très abaissé. Cette hypoprothrombinémie acquise est un facteur de risque hémorragique.

#### **12 Puisque le TCA, même lorsqu'il est réalisé avec un réactif approprié, n'est pas capable de détecter tous les LA, quel est le test qui permet de les dépister avec le maximum de sensibilité ?**

Aucun test n'est sensible à 100% des LA. Il est indispensable d'utiliser une combinaison de tests dits "de dépistage". Outre le TCA, qui est toujours l'un des éléments de cette combinaison, on peut proposer un second test dépendant des phospholipides.

Le test de thromboplastine diluée est très utilisé en France et en Europe. Il s'agit d'une modification du temps de Quick. La thromboplastine calcique est diluée au 1:500 dans une solution de  $\text{CaCl}_2$  25 mM. La concentration en phospholipides est alors limitante et le test devient sensible à l'effet des LA. Le test est réalisé sur le mélange malade + témoin volume à volume et le résultat s'exprime en rapportant le temps du mélange au temps du témoin. Un rapport supérieur ou égal à 1.15 est indicateur de la présence d'un inhibiteur. Thromboplastines d'extraction ou recombinantes, quel que soit leur indice ISI, peuvent être utilisées pour ce test. Le test est pris en défaut lorsque le taux de fibrinogène du plasma est élevé au-delà de 5 g/L, ce qui entraîne une correction partielle de l'allongement. On ne peut donc pas interpréter un résultat négatif de ce test en présence d'une forte hyperfibrinogénémie.

En Amérique du Nord, les tests basés sur l'activation de la coagulation par des venins sont beaucoup plus utilisés. Le venin de vipère Russell, la Textarine, le venin du serpent Taïpan, activent la coagulation d'une manière dépendante des phospholipides. Les fabricants de réactifs proposent des trousses basées sur ce principe. Leurs performances sont bonnes, mais il faut rappeler qu'aucun de ces tests n'offre, à lui seul, une sensibilité absolue.

#### **13 Lorsqu'un inhibiteur a été mis en évidence par l'épreuve de correction, comment s'assurer qu'il s'agit bien d'un LA ?**

Le diagnostic de LA ne peut être retenu qu'à l'issue d'une épreuve dite de confirmation, qui atteste de la spécificité antiphospholipide de l'inhibiteur.

Le principe de l'épreuve est simple. S'il s'agit d'un anticorps antiphospholipide, l'addition de phospholipides au milieu réactionnel neutralise l'effet de l'inhibiteur et donc corrige l'allongement du temps de coagulation.

Diverses préparations de phospholipides, d'origine plaquettaire ou autre, sont proposées par les fabricants pour réaliser cette épreuve. Des réactifs standards type céphaline peuvent aussi être utilisés à des concentrations supérieures à celles préconisées par les fabricants. Il est recommandé d'utiliser toujours l'épreuve de confirmation basée sur le test qui permis la détection du LA. Par exemple si un LA a été mis en évidence par l'allongement d'un test au venin de vipère Russell alors que le TCA était normal, la confirmation doit être recherchée par l'addition de phospholipides dans le test au venin (et non dans un test basé sur un TCA). La neutralisation s'exprime par une variation des rapports de temps malade/témoin aux concentrations basées et élevées en phospholipides. Les valeurs-seuils qui définissent la neutralisation varient suivant le système utilisé.

**14 L'épreuve de confirmation ne peut-elle pas être remplacée par un immuno-essai en phase solide permettant la détection d'anticorps antiphospholipides ?**

Non. LA et anticorps antiphospholipides révélés par les immuno-essais sont des populations d'anticorps différents. Environ un tiers des patients présentant un LA n'ont pas d'anticorps antiphospholipides détectables et inversement. La présence d'un anticorps antiphospholipide n'est pas un argument suffisant pour qualifier un inhibiteur de la coagulation. Il ne faut pas oublier que des inhibiteurs d'autre nature, un auto-anticorps antifacteur-VIII par exemple, se rencontrent aussi au cours des maladies auto-immunes où ils peuvent être associés à des anticorps antiphospholipides.

**15 Existe-t-il des tests intégrés qui offrent dans le même temps la possibilité de dépister et de confirmer la nature d'un inhibiteur de la coagulation ?**

Plusieurs tests sont maintenant proposés ; ils permettent dans le même temps un dépistage, une correction par le témoin, une neutralisation par l'addition de phospholipides.

Le système STACLOT LA" (Stago) est un TCA sensible au LA, réalisé sur le mélange du plasma à éprouver et d'un plasma normal lyophilisé en présence ou l'absence de phospholipide en phase hexagonale. Un raccourcissement de plus de 7 sec. du temps de coagulation est indicatif de la présence d'un LA.

De manière analogue, un système dérivé du test au venin de vipère Russell (DVV confirmR) est proposé par American Diagnostica.

**16 Est-ce qu'on peut utiliser isolément un de ces tests intégrés pour le diagnostic de LA ?**

Non. Ces tests sont sensibles et spécifiques mais ils ne détectent pas isolément 100% des LA. Ils peuvent être combinés à l'un des tests de dépistage vus plus haut mais le prix de revient de ces systèmes est assez élevé, ce qui conduit à les utiliser seulement pour l'étape de confirmation pour les plasmas contenant un inhibiteur.

**17 Si l'on désire sous-traiter certaines de ces épreuves ou les réaliser en temps différé, peut-on congeler le plasma ?**

Il est parfaitement possible de réaliser l'ensemble de ces tests sur un plasma congelé, sous réserve que le plasma soit très appauvri en plaquettes avant d'être congelé. En effet, lorsque le plasma se décongèle, les plaquettes résiduelles éclatent et exposent des phospholipides de membranes susceptibles de neutraliser les LA. Il est recommandé de descendre en dessous du chiffre de 10.109 plaquettes/L. L'idéal est de centrifuger le plasma à haute vitesse (5000 g pendant 20 min.) puis de filtrer le plasma à travers un filtre de porosité 0,22 µ ou de procéder à une deuxième centrifugation du premier surnageant dans les mêmes conditions avant la congélation.

Une conservation de quelques jours à -30°C est acceptable mais une fois décongelé le plasma ne pourra être recongelé à nouveau.

**18 Est-ce que l'appareillage utilisé pour mesurer les temps de coagulation a une Importance ?**

Les seuils de positivité des différents tests varient probablement suivant l'appareillage, mais ceci n'a pas été réellement étudié à ce jour.

**19 Est-ce qu'il existe une possibilité de quantifier l'activité d'un LA ?**

En raison de l'hétérogénéité biologique des LA, il n'a pas été possible de proposer un standard d'activité. Chez un patient individuel, l'évolution du LA peut être suivi de manière assez grossière en utilisant le même test pour comparer des plasmas successifs.

**20 Est-il facile de distinguer un LA d'une autre inhibiteur de la coagulation ? Un auto-anticorps antifacteur VIII par exemple ?**

Non, c'est le diagnostic différentiel le plus difficile lorsque l'anticorps est neutralisant in vitro. Les tests dérivés du TCA ne sont pas discriminants, et les valeurs-seuils des autres tests de dépistage et des épreuves de confirmation sont différentes des valeurs-seuils qui conviennent dans le cas général. L'élément de suspicion est la concentration d'un taux bas d'un des facteur de la voie "endogène" de la coagulation, le facteur VIII dans l'exemple choisi, taux que ne se corrige pas lorsque l'on réalise les variantes techniques décrites à la question 23. Si dans ces conditions les épreuves de confirmation par addition de phospholipide ne donnent pas un résultat sans ambiguïté, le diagnostic différentiel relève du laboratoire spécialisé.



## **21 Peut-on rechercher un LA chez un patient traité par des anticoagulants, héparines ou antivitamine K ?**

L'héparine standard interfère avec les tests de dépistage (TCA, temps de thromboplastine diluée). Les tests "intégrés" (question 15) par contre comportent un agent neutralisant l'héparine et peuvent être utilisés. Les systèmes permettant d'éliminer l'héparine d'un échantillon plasmatique par absorption sur filtres, HeparsorbR (Organon Teknika) ou Hepcheck (Biopall), ou par dégradation enzymatique Hepzyme (Baxter) sont coûteux et partiellement efficaces pour les fortes héparinémies. Il est donc souvent préférable de ne pas chercher à établir ce diagnostic tant que le patient est sous traitement curatif par l'héparine standard.

La mise en évidence d'un LA dans le plasma d'un sujet traité par les antivitamines K est possible car les tests de dépistage et les tests de confirmation sont pratiqués sur des mélanges du plasma du malade et d'un témoin, ce qui corrige le déficit en facteurs vitamine K dépendant. Cependant, les valeurs-seuils sont variables selon les réactifs en particulier pour le TCA ; pour le test de thromboplastine diluée, la valeur-seuil du rapport temps du mélange sur temps du témoin doit être prise à 1.20 au lieu de 1.15 qui convient dans le cas général.

## **22 Est-on certain que les LA ne font jamais saigner ?**

Les LA eux-mêmes ne font pas saigner car in vivo leur action sur la coagulation physiologique est faible. Mais, ils peuvent être associés à d'autres auto-anticorps antiprothrombine (question 11) ou antiplaquettes qui peuvent être responsables respectivement d'une hypoprothrombinémie ou d'une thrombopénie, authentiquement hémorragiques. Il est donc toujours nécessaire d'effectuer un temps de Quick et une numération plaquettaire.

Si les LA ne font pas eux-mêmes saigner, ils ne diminuent pas le risque hémorragique d'un déficit en facteur d'autre origine, par exemple constitutionnel. Si la question posée par le clinicien concerne en premier lieu un risque hémorragique, comme c'est souvent le cas à l'occasion d'un examen préopératoire d'hémostase, la découverte fortuite d'un LA n'évacue pas le risque. Pour répondre à la question, il sera alors nécessaire de mesurer spécifiquement les facteurs de la coagulation.

## **23 Peut-on mesurer les facteurs de la coagulation dans un plasma contenant un LA ?**

Un LA peut perturber la mesure des facteurs par les épreuves dérivées du TCA, c'est-à-dire des facteurs dits de la voie endogène de la coagulation (VIII, IX, XI et XII en particulier). L'interférence de l'inhibiteur est évidente car si le taux apparent du facteur de coagulation se normalise, le plasma du malade est testé à de grandes dilutions (1:40, 1:80). L'épreuve doit donc être réalisée à au moins deux dilutions élevées du plasma. Par ailleurs, il est recommandé d'utiliser ici un réactif peu sensible au LA, ou de réaliser le test en augmentant la concentration de céphaline pour réduire encore l'interférence de l'inhibiteur. La mesure des facteurs V, II, VII et X par une épreuve dérivée du temps de Quick n'est pas perturbé par les LA.

## **24 Est-ce que tous les LA sont un facteur de risque de thrombose ?**

La présence d'un LA au cours d'une maladie auto-immune, en particulier d'un lupus accroît le risque de tout accident clinique du syndrome des antiphospholipides, en particulier celui de thrombose artérielle ou veineuse.

Il est probable que certains LA ou anticorps antiphospholipides et non tous, sont directement pathogènes, mais à ce jour nous ne disposons pas de critères biologiques permettant d'identifier ces anticorps particuliers.

En dehors des maladies auto-immunes en particulier au cours des infections (syphilis, virus de l'immunodéficience humaine, viroses respiratoires de l'enfant, etc.), le rôle pathogène des LA n'est pas bien établi. Ces anticorps semblent être les témoins passifs de conflits immunologiques et ne sont pas réellement thrombogènes.

## **25 Doit-on toujours compléter la recherche d'un LA par celle des anticorps antiphospholipides à l'aide d'un immuno-essai en phase solide de type ELISA ?**

S'il existe un contexte clinique évocateur, le prescripteur doit demander en parallèle et systématiquement la recherche de LA au laboratoire d'hémostase et la recherche d'anticorps antiphospholipides au laboratoire d'immunologie. En effet, il s'agit de populations différentes d'anticorps qui peuvent être dissociés chez un même malade mais explorent le même désordre immunologique et sont associés aux mêmes complications cliniques.

En l'absence de tout contexte clinique, par exemple lorsqu'un LA est découvert fortuitement lors d'un examen d'hémostase, il convient seulement de contrôler l'évolution du LA à quelques semaines d'intervalle. Très souvent, le LA disparaît spontanément et aucun examen complémentaire n'est plus nécessaire. Par contre si le LA persiste, des examens biologiques d'auto-immunité, dont la recherche d'anticorps antiphospholipides, sont alors nécessaires.

## 26 La recherche d'un LA est-elle rentable ?

Certainement pour le patient car il peut s'agir d'un signe diagnostique cardinal de plusieurs maladies ou syndromes graves et c'est aussi un élément pronostic de complications cliniques sévères. Pour le biologiste, la combinaison des tests de laboratoire et le coût élevé des trousses commerciales fait de cette recherche, lorsqu'elle est bien faite, un examen déficitaire au regard de sa cotation actuelle à la nomenclature des actes de biologie.

## ■ REFERENCES

---

1. Exner T, Triplett DA, Taberner D, Machin SJ : Guidelines for testing and revised criteria for lupus anticoagulants. *Thromb Haemostas* 1991 ; 65 : 320-325.
2. Brandt J : Criteria for the diagnosis of lupus anticoagulants : an update, *Thromb Haemostas* (in press).
3. Hemostasis Committee of the "Société Française de Biologie Clinique" : Laboratory heterogeneity of the lupus anticoagulant : a multicentre study using different clotting assays on a panel of 78 samples. *Thromb Res* 1992 ; 66 : 349-364.
4. Working Group on Hemostasis of the "Société Française de Biologie Clinique" : Comparison of a standardized procedure with current laboratory practices for the detection of lupus anticoagulant in France. *Thromb Haemostas* 1993 ; 70 : 781-786.
5. Caron C, Goudemand J, for the Working Group on Hemostasis of the "Société Française de Biologie Clinique" : Sensitivity and specificity of tests and reagents used in the diagnosis of LA : a french multicenter study. *Lupus* 1994 ; 3 : 364 (abstract).

# INTERET DE LA RECHERCHE DES ANTICORPS ANTIPHOSPHOLIPIDES

## Le point de vue du clinicien

J.C. PIETTE

CAHIER  
DE  
**Formation**  
version numérique

Que de chemin parcouru depuis la description, alors considérée comme anecdotique, des "faux BW positifs" au cours du lupus systémique ! La recherche des anticorps antiphospholipides (aPL) a connu un développement considérable depuis 10 ans. Deux chefs de file dominent la famille des aPL : l'anticoagulant circulant de type lupique et les anticorps anti-cardiolipine (aCL). Ils sont associés à la survenue de certains événements pathologiques (thromboses artérielles et/ou veineuses, pertes fœtales répétées, thrombopénie périphérique), ce qui a conduit à l'individualisation d'un cadre nouveau, le syndrome des anticorps antiphospholipides (SAPL). Identifié à l'origine comme un sous-groupe totalement inclus au sein du lupus systémique, le SAPL a été reconnu par la suite en l'absence de toute pathologie définie, et dénommé alors "SAPL primaire". Il semble aujourd'hui que la présence d'aPL constitue un facteur de risque indépendant de thrombose dans la population générale, le SAPL devenant alors un authentique problème de santé publique.

Pour le clinicien, l'intérêt de la recherche des aPL est double, diagnostique et thérapeutique. Leur mise en évidence est la clé qui permet de classer certaines maladies thromboemboliques ou certaines histoires obstétricales dramatiques, auparavant considérées comme mystérieuses. Mais surtout un diagnostic confirmé de SAPL conduit à une thérapeutique propre pour prévenir les récurrences de thrombose et/ou de mort fœtale. Les schémas actuellement proposés se révèlent déjà souvent efficaces malgré leur empirisme. Le développement récent de plusieurs modèles murins de SAPL permettra certainement dans un proche avenir de leur conférer une meilleure base rationnelle.

### Quelles sont les indications actuelles justifiant la recherche des aPL ?

- En pathologie obstétricale, il est démontré que cette recherche n'est pas justifiée au cours d'une première grossesse chez une femme sans antécédent, ou après une première fausse couche précoce - événement assez banal -. Elle devient par contre légitime après deux pertes fœtales consécutives ou dans le bilan étiologique d'un épisode d'éclampsie.

- En pathologie vasculaire, il est beaucoup plus difficile de formuler des recommandations précises. Dans certaines situations, la recherche de aPL s'impose à l'évidence, notamment thromboses veineuses récurrentes ou association de thromboses de siège artériel et veineux. Ailleurs, et notamment devant une première manifestation thrombotique, la réponse est actuellement conditionnée par l'âge du patient, la nature du vaisseau et le siège de la thrombose. Une première thrombose artérielle survenant chez un sujet jeune sera toujours explorée, de même qu'une première thrombose veineuse de siège atypique. Il est plus difficile de donner une réponse pour une première thrombose artérielle survenant chez un sujet âgé - cette réponse semblant toutefois être positive en matière d'accident ischémique cérébral -, ou pour une première phlébite surale. Dans ce dernier cas, l'existence d'autres facteurs de risque de thrombose (tels que l'association tabac + œstroprogestatifs) ne doit pas obligatoirement dispenser de la recherche des aPL, ces facteurs étant souvent présents lors du premier accident vasculaire. Dans ces situations, le contexte clinique (antécédents obstétricaux, présence d'un livedo ...) et biologique (thrombopénie même modérée, notion de sérologie syphilitique dissimulée) guidera le clinicien dans ses prescriptions.

- Enfin, certaines situations ne justifient pas aujourd'hui la recherche systématique d'aPL, du moins hors du cadre d'investigations cliniques définies : migraine, épilepsie, valvulopathies cardiaques, athérome, vascularites inflammatoires, infection HIV...

Les limites des techniques aujourd'hui disponibles ne doivent pas être sous-estimées : difficulté de l'élaboration d'une standardisation, interprétation délicate des tests d'hémostase chez les patients anticoagulés, signification incertaine des titres faibles d'aCL notamment chez les sujets âgés, impossibilité de distinguer par des procédés biologiques simples les aPL "auto-immunes" - présumés pathogènes car associés à des thromboses - de ceux qui apparaissent à la suite d'infections, lors de la prise de certains traitements, voire en réaction à certaines lésions membranaires durables. La résultante de ces incertitudes est la fréquente nécessité de répéter les explorations biologiques pour confirmer un diagnostic de SAPL, le coût de ces examens n'étant pas négligeable. Nous sommes bien loin ici de la précision extrême avec laquelle l'exploration génétique permet de reconnaître la mutation de Leyden qui conditionne la résistance à la Protéine C activée, autre avancée majeure dans le domaine des états prothrombotiques. Mais l'intérêt des recherches

répétées d'aPL ne se limite pas au seul diagnostic ; en effet, la persistance de ces anticorps justifie le maintien d'un traitement à visée antithrombotique, non totalement dénué de risques. Plusieurs déterminations négatives sont nécessaires avant de discuter son arrêt éventuel, ou du moins le remplacement des antivitamines K par l'aspirine. Sachant que la présence des aPL est habituellement durable, du moins au cours du lupus systémique et du "SAPL primaire", la demande des cliniciens ne fera que croître dans les années à venir. En attendant une nouvelle génération de tests permettant d'appréhender le caractère potentiellement pathogène des aPL mis en évidence (cible antigénique affinée, dépendance vis-à-vis de la 2 glycoprotéine I, mesure simplifiée de l'affinité pour les phospholipides anioniques, voire identification de marqueurs génétiques ...), tous les travaux visant à évaluer les techniques disponibles pour élaborer les procédures les plus performantes sont les bienvenus.

Tel est l'objet de cette brochure.

Merci à toutes celles et ceux qui ont contribué à sa réalisation.

## ANTIPHOSPHOLIPIDES ET GROSSESSE

A. GOMPEL

Le gynécologue est confronté à la recherche d'antiphospholipides dans une circonstance bien particulière : celle de fausses couches à répétition. Si les causes les plus fréquentes de ce symptôme sont ailleurs (malformations utérines, caryotype anormal, infections), la recherche d'anomalies immunologiques est indiquée en deuxième intention dès lors qu'une femme a plus de trois fausses couches spontanées (FCS). Chez les femmes ayant eu une FCS, on retrouve un anti-cardiolipide dans 1,2% des cas, après deux FCS dans 12% des cas et après trois FCS, s'il n'existe ni anomalie caryotypique, ni malformation utérine, dans 20% des cas. Cette proportion est de 3,8%, 15% et 50% pour un anticoagulant circulant de type lupique. Cependant, le seuil de positivité est souvent un sujet de discussion et il faut confirmer l'élévation en répétant les dosages. La demande peut parfois être orientée s'il existe la notion d'un faux BW positif ou des signes de la série lupique. L'antiphospholipide peut rester une manifestation immunologique isolée ou s'intégrer dans le cadre d'un lupus authentique. La relation de cause à effet entre l'anticoagulant circulant et les avortements ne fait pas de doute et il a été montré, au moins dans le cadre du lupus, que si une femme a fait une fausse couche lors de sa première grossesse, elle a nettement moins de 50% de chance de mener une grossesse à terme ultérieurement.

En pratique, la découverte d'un anti-cardiolipide chez une femme qui n'a pas encore fait de fausse couche (ni de phlébite) ne nécessite pas de mettre en œuvre un traitement autre que l'aspirine à petite dose (100 mg/jour). En revanche, lorsqu'est déjà survenue une grossesse avec fausse couche, on peut proposer une corticothérapie associée à l'aspirine ou à l'héparine en cas d'antécédent de phlébite associé.



## Antithrombine III sur l'échantillon 94 B4

### RESULTATS DES PARTICIPANTS

(pour les méthodes employées par plus de 5 laboratoires)

*Expression en pourcentage d'activité*

Méthodes	N	m	s	CV%
01 Absence d'information	63	100,3	14,3	14,2
02 Activité colorimétrique	1083	103,0	9,4	9,1
03 Activité chronométrique	55	100,9	11,8	11,7
04 IDR Mancini	237	104,4	13,8	13,2
06 Microlatex Liatest	127	100,2	10,9	10,9
07 Néphélémétrie	275	91,1	13,0	14,2
<b>Ensemble (tronqué)</b>	<b>1875</b>	<b>101,1</b>	<b>11,8</b>	<b>11,7</b>

*Expression pondérale en milligramme par décilitre*

Méthodes	N	m	s	CV %
01 Absence d'information	83	28,3	4,8	16,9
02 Activité colorimétrique	97	29,5	4,3	14,8
03 Activité chronométrique	13	28,6	4,1	14,6
04 IDR Mancini	407	30,6	4,6	15,2
06 Microlatex Liatest	138	29,5	3,6	12,3
07 Néphélémétrie	1451	25,4	3,5	13,7
<b>Ensemble (tronqué)</b>	<b>2213</b>	<b>26,9</b>	<b>4,4</b>	<b>16,4</b>

### ENQUETE AT III SUR LE PLASMA 94 B4

**Participation : 3 521 laboratoires dont :**

expression des résultats en pourcentage d'activité :	1 876
expression des résultats en poids :	2 216
expression des résultats à la fois en poids et en activité	568 laboratoires.

**Problèmes de transcription des résultats :**

Pour les résultats en milligramme, la variété des usages selon les laboratoires et les réactifs a entraîné une aimable diversité dans le cadrage... On attendait des résultats voisins de 30 mg (+ 8). Les résultats "cadrés à gauche" par exemple 290 mg/dl ont été modifiés avant exploitation : division par 10, écriture 029 mg/dl en supposant une habitude d'expression en mg/litre. Les résultats bas : par exemple 3 ou 5 mg ou 11 mg ont été saisis tels quels.

**Bonnes réponses :** taux normal d'AT III sur le plasma 94 B4.

**Analyse des résultats les plus bas :**

**L'étude des résultats les plus bas en pourcentage d'activité donne les résultats suivants :**

\* 42 laboratoires ont fourni des résultats inférieurs à 70%

- Parmi ceux-ci, 6 sont des erreurs de transcription évidentes avec la même valeur pour l'activité en pourcentage et l'expression en masse.
  - 5 laboratoires ont fourni des résultats différents, cohérents en mg et pourcentage, donc crédibles comme valeurs analytiques.
  - 28 laboratoires n'ont fourni que des résultats en activité compatibles avec des erreurs de transcription ou des résultats analytiques bas.
  - 13 résultats en activité (fournis sans résultats en mg) sont situés entre les bornes 40 et 70%, compatibles seulement avec des erreurs analytiques.
- Ainsi, pour 18 (5 + 13) laboratoires, le chiffre fourni en pourcentage n'est pas suspect d'erreur de transcription et le résultat est dans une zone pathologique.

Pour les résultats en masse, 33 laboratoires proposent des chiffres inférieurs à 20 mg/dl.

Les moyennes et les dispersions transcrites dans les tableaux joints ont été calculées après troncature à + 3 écarts type autour d'une moyenne brute.

Les résultats des erreurs de transcription analysés ci-dessus ne sont pas pris en compte dans l'élaboration de ces "moyenne et dispersion sur population tronquée".

**Commentaires sur ces résultats :**

A l'examen des résultats des participants, on note d'abord le bon groupement des résultats des techniques colorimétriques : CV 9%.

On note aussi la forte proportion de laboratoires utilisant des techniques immunologiques : par exemple techniques néphélométriques : 1 567 laboratoires. Ceci mérite réflexion quand on sait que les variants AT III ne sont habituellement pas détectés en techniques immunologiques, mais seulement par la mesure de leur activité.



### Quand doser l'Antithrombine ?

#### → *Thromboses veineuses profondes récidivantes*

- sans cause évidente,
  - ou disproportion entre la thrombose et une circonstance favorisante
  - à fortiori si un traitement prophylactique avait été prescrit,
  - apparaissant chez un sujet jeune (< 45 ans),
  - de siège inhabituel,
  - (et/ou) avec notion familiale de thromboses récidivantes,
  - (et/ou) dans le cadre d'un **déficit constitutionnel**,
- Le dosage fait alors partie du "Bilan Thrombose".

#### → *Situations particulières où le déficit est acquis*

- Insuffisance hépatique (trouble de synthèse, mais souvent équilibre/déficit facteurs procoagulants)
- Coagulation intravasculaire (consommation)
- Syndrome néphrotique, entéropathies (fuite protéique)
- Traitement par L-Asparaginase (dégradation protéique)
- L'héparinothérapie peut entraîner une baisse modérée (de ~ 10 à 20%) de l'AT (complexe AT-héparine), souvent sans conséquence sur l'efficacité du traitement, sauf en cas de déficit constitutionnel en AT.
- Les traitements contraceptifs ne sont plus réellement une indication de dosage, (sauf contextes particuliers de thrombose), car les œstrogènes y sont actuellement peu dosés.
- Des variations physiologiques sont associées à la grossesse (4e mois), au post-partum, à l'âge (bébé de < 6 mois, homme âgé) : diminution plus ou moins modérée de l'AT sans conséquence thrombotique.

L.H.

### Quelle attitude thérapeutique peut-on adopter en cas de déficit ?

- *En cas d'accident thrombotique aigu chez un sujet déficitaire en AT* (déficit constitutionnel, syndrome néphrotique,...)

- Héparinothérapie et transfusion de Concentré d'Antithrombine\*.

- *En prévention des accidents thrombotiques*

- Antivitamine K au long cours chez un sujet déficitaire constitutionnel avec antécédents de thrombose. Ce traitement est discuté en l'absence d'antécédent thrombotique.
- Héparinothérapie ± transfusion d'AT\* chaque fois qu'un facteur de risque se surajoute (intervention chirurgicale, alitement, grossesse, etc.)

\* L'héparinothérapie est moins efficace en cas de déficit en AT (< 30%).

L. H.



# L'ANTITHROMBINE III OU ANTITHROMBINE

M. AIACH

*L'antithrombine (AT) est le nom retenu par le sous-comité "Inhibiteurs de la coagulation " de la Société Internationale Hémostase et Thrombose.*

## DONNEES CLINIQUES ET EPIDEMIOLOGIQUES

L'importance de l'AT a été bien démontrée depuis la première publication d'Egeberg en 1965 (1), montrant la relation entre thrombophilie et déficit en AT. La transmission du déficit s'effectue sur le mode autosomique dominant, les hétérozygotes ayant des concentrations diminuées de moitié.

La prévalence des déficits en AT dans la population générale a été estimée entre 1/2 000 et 1/5 000. La notion d'un facteur déclenchant tel que alitement, chirurgie, grossesse est souvent retrouvée à l'origine d'un accident aigu chez un sujet déficitaire et ne doit pas dispenser de l'enquête étiologique. Une méta-analyse de 62 familles montre que la prévalence d'accidents thrombotiques cliniques chez les sujets porteurs d'un déficit en AT est de 51% (2).

## STRUCTURE ET FONCTION DE LA PROTEINE

L'AT est le principal inhibiteur plasmatique de la thrombine, mais elle inhibe aussi les facteurs Xa, IXa et XIa. L'AT appartient à la famille des serpins, qui regroupe les inhibiteurs de sérine-protéase et dont le modèle est l'antitrypsine (1-AT). Le site réactif de l'AT est localisé au niveau d'une boucle formée du dipeptide Arg 393-Ser 394 qui joue le rôle de pseudo-substrat pour la thrombine. En effet, la thrombine ou les autres protéases cibles clivent la liaison Arg 393-Ser 394 avec pour conséquence l'induction d'un changement de conformation important de l'AT qui peut alors former un complexe stable avec la protéase cible.

L'héparine augmente d'un facteur d'environ 2 000 la vitesse d'inhibition de la thrombine. In vivo, ce sont les sulfates d'héparine de la paroi vasculaire qui jouent ce rôle d'activateur. La fixation de l'héparine à l'AT s'effectue par l'intermédiaire des groupements sulfates de l'héparine avec des acides aminés basiques situés au sein du site de fixation de l'héparine, domaine situé dans la région amino-terminale de la molécule.

## BASES MOLECULAIRES DES DEFICITS EN AT

Le gène codant pour l'AT est situé sur le chromosome I (1q23-25). Il est composé de 7 exons et s'étend sur 13 480 paires de bases, du site de transcription initial jusqu'au site de polyadénylation (3). Les mutations du gène de l'AT sont répertoriées régulièrement dans une base de données (4). L'analyse du génotype et du phénotype a conduit à proposer une classification des déficits héréditaires en AT.

Les déficits de type I, les plus fréquents, sont caractérisés par la synthèse réduite d'une protéine normale. Ils résultent, dans 90% des cas, de micro-insertions ou de micro-délétions de 1 à 30 nucléotides, entraînant ou non un décalage du cadre de lecture. Les 47 mutations répertoriées dans la base de données se traduisent par l'absence d'expression de l'allèle muté et par une diminution de 50% de la concentration chez les hétérozygotes, facile à identifier avec le dosage de l'AT dans le sang circulant.

Les déficits de type II, qualitatifs, sont caractérisés par la synthèse d'une protéine anormale incapable de neutraliser la thrombine (type II "reactive site" ou RS) ou incapable de fixer l'héparine (type II "heparin binding site" ou HBS). Cette distinction est importante : l'expression clinique observée dans les types II RS est identique à celle des types I, en revanche, dans le type II HBS, le risque thrombotique est faible, voire comparable à celui des sujets non déficients, chez les hétérozygotes. Le type II HBS est parfois observé à l'état homozygote (4) avec des complications thrombotiques artérielles fréquentes. Plusieurs acides aminés de la boucle du site réactif sont le siège de mutations

responsables de déficits de type II RS. Les mutations observées dans les déficits de type II HBS intéressent des acides aminés et sont localisées dans le domaine formé par l'hélice D et la séquence N-terminale de l'AT (pour revue, cf 5).

Un cas particulier est représenté par les mutations de la région correspondant aux acides aminés 402 à 407 qui ont un effet pléiotropique (type II PE) : une protéine non fonctionnelle est présente en quantité réduite dans la circulation.

## ■ DIAGNOSTIC DES DEFICITS EN AT

L'association de méthodes mesurant l'activité de la protéine en présence et en l'absence d'héparine avec une méthode immunologique permet 1) de faire le diagnostic, 2) de typer le déficit (tableau I).

**Tableau I : les différents types de déficit en antithrombine**

	Type I	Type II		
		SR	HBS	PE
Activité cofacteur de l'héparine (%)	< 60	< 60	< 60	< 60
Activité antithrombine progressive (%)	< 60	< 60	100	< 60
Protéine immunoréactive (%)	< 60	100	100	< 70

SR.: Reactive Site ; HBS : heparin binding site ; EP : Pleiotropic Effect

Plusieurs méthodes sont disponibles et doivent être utilisées dans un ordre bien précis :

1. Le dépistage du déficit s'effectue par la mesure de l'activité cofacteur de l'héparine qui, lorsqu'elle est réalisée dans de bonnes conditions analytiques, décèle l'ensemble des anomalies de type I et de type II. Elle est donc obligatoirement utilisée en première intention. Le dosage consiste à évaluer la vitesse initiale de l'inhibition de la thrombine bovine ou du facteur Xa en présence d'héparine. Le dosage n'est spécifique qu'avec l'une de ces protéases, la thrombine humaine étant sensible à un autre inhibiteur, le 2ème cofacteur de l'héparine. La thrombine ou la facteur Xa sont ajoutés en excès au plasma avec l'héparine, incubés pendant 30 à 120 sec. (les temps les plus courts donnent les dosages les plus spécifiques) et la protéase résiduelle est mesurée par un substrat synthétique (méthode chromogénique).

2. Lorsque l'activité cofacteur de l'héparine est abaissée (< 60%), il est impératif de réaliser un dosage par une méthode immunologique (technique de Laurell, méthodes néphélométriques). Ce dosage permet de confirmer un déficit de type I si la concentration est < 60 % et de suspecter un déficit de type II s'il existe une divergence avec l'activité cofacteur de l'héparine. Dans ce cas, il est nécessaire de mesurer l'activité antithrombine ou anti-facteur Xa en l'absence d'héparine (activité progressive) pour différencier les types II HBS et II RS.

3. Les déficits de type II PE sont caractérisés par une différence modeste entre la concentration immunologique et l'activité cofacteur de l'héparine. La présence de traces de protéine non fonctionnelle n'est révélée que par des techniques électrophorétiques comme l'électrophorèse bidimensionnelle en présence d'héparine ou l'immunotransfert. En effet, le variant moléculaire exprimé en faible quantité est révélé soit par une affinité diminuée pour l'héparine, soit par une masse moléculaire anormalement élevée.

Ainsi, le dépistage des déficits héréditaires en AT doit se faire par la mesure de l'activité cofacteur de l'héparine avec un substrat synthétique. Une activité basse doit être vérifiée sur un second prélèvement qui permettra de mettre en œuvre le dosage immunologique pour typer le déficit (tableau I).

---

## BIBLIOGRAPHIE

---

- 1- Egeberg O. Inherited antithrombin III deficiency causing thrombophilia. *Thromb, Diath. Haemorrh.* 1965; 13: 516-530.
- 2- Demers C., Ginsberg J.S., Hirsh J., Henderson P., Blajchman M.A. Thrombosis in antithrombin-III-deficient persons. Report of a large kindred and literature review. *Ann. Intern. Med.* 1992; 116: 754-761.
- 3- Olds R.J., Lane D.A., Chowdhury V., De Stefano V., Leone G., Thein S.L. Complete nucleotide sequence of the antithrombin gene : evidence for homologous recombination causing thrombophilia. *Biochemistry* 1993; 32: 4216-4224.
- 4- Olds R.J., Lane D.A., Boisclair M., Sas G., Bock S.C., Thein S.L. Antithrombin Budapest 3. An antithrombin variant with reduced heparin affinity resulting from the substitution L99F. *FEBS* 1992; 300: 241-246.
- 5- Lane D.A., Olds R.J., Boisclair M., Chowdhury V., Thein S.L., Cooper D.N., Blajchman M., Perry D., Emmerich J., Aiach M. Antithrombin III mutation database : first update. For the thrombin and its inhibitors subcommittee of the scientific and standardization committee of the international society on thrombosis and haemostasis, *Thromb. Haemost.* 1993; 70: 361-369.



## HEPATITES VIRALES

### MARQUEURS SEROLOGIQUES DE L'HEPATITE B SUR L'ECHANTILLON 94 B5

#### Bonnes réponses

Echantillon 94 B5

- Négatif en antigène HBs
- Positif en anticorps anti-HBs
- Positif en anticorps anti-HBc
- Négatif en anticorps IgM anti-HBc
- Négatif en antigène HBe
- Positif en anticorps anti-HBe

#### AVIS DES BIOLOGISTES EXPERTS :

Unanimité sur ces bonnes réponses.

"... L'échantillon 94 B5 est clairement négatif en Ag HBs et présente une forte réactivité pour les 3 anticorps dirigés contre les Ag du VHB : anti-HBs (990 mUI/ml, anti-HBc = 94% de compétition et anti-HBe = 88% de compétition).

Cet échantillon présente une forte réactivité anti-HCV avec des signaux importants sur les 4 protéines présentes sur le RIBA-3..."

A.M. Couroucé

"... L'échantillon B5 est **négatif** en Ag HBs (ratio échantillon/seuil : 0,26).

La recherche de l'anticorps anti-HBs est **positive** (titre : > 150 mUI/mL).

La recherche de l'anticorps anti-HBc est positive avec un ratio seuil/échantillon de 6,50 et la recherche de l'anticorps anti-HBc de type **M** est **négative**.

Par ailleurs, la recherche de l'antigène HBe est **négative** (ratio échantillon/seuil : 0,44) et la recherche de l'anticorps anti-HBe est **positive** (ratio seuil/échantillon : 3,36).

La recherche de l'anti-VHC est positive en Sanofi Diagnostics Pasteur et Ortho avec des ratio échantillon/seuil respectivement de 7,27 et 6,59, confirmée en RIBA III (c 100-3 +++, c33c +++, c22-3 +++, NS5 +++)..."

Madame Maniez-Montreuil

#### SOURCES DE L'ECHANTILLON :

Plasmas de dons du sang écartés de l'usage thérapeutique sur la présence de marqueurs sérologiques des hépatites virales B ou C (prélèvement sur CPD, élimination du cryoprécipité, poolage, distribution, lyophilisation).

#### REPONSES D'ENSEMBLE DES PARTICIPANTS :

(après exploitation des correspondances)

	<i>négative</i>	<i>douteuse</i>	<i>positive</i>	<i>Taux de positivité (%)</i>
Antigène HBs	3007	5	14	0,46
Anticorps anti-HBs	13	0	2413	99,46
Anticorps (IgG) anti-HBc	26	2	2350	99,66
Anticorps IgM anti-HBc	1129	1	21	1,82
Antigène HBe	544	2	5	0,90
Anticorps anti-HBe	16	0	558	97,21

<p><b>Bonnes réponses</b> <u>Echantillon 94 B5</u> • <b>Positif en anticorps anti-HCV</b></p>
---

**AVIS DES BIOLOGISTES EXPERTS :**

Unanimité sur ces bonnes réponses.

"... La recherche de l'anti-HCV est positive au Sanofi Diagnostics Pasteur et Ortho avec des ratios échantillon/seuil respectivement de 7,27 et 6,59, confirmée en Riba III c 100-3 +++, c33c +++, c22-3 +++, N5 5 +++)." "

Madame Maniez-Montreuil

Cet échantillon présente une forte réactivité anti-HCV.

**REPONSES DES PARTICIPANTS :**

- Tests de dépistage de l'hépatite C

**Réponses par laboratoire :**

- Réponses positives exclusives: **1 654 laboratoires**
  - dont 2 réponses positives : 1 525
  - dont 1 réponse positive : 129.
- Réponses négatives exclusives : **7 laboratoires**
  - dont 2 réponses négatives : 6 laboratoires
  - dont 1 réponse négative : 1 laboratoire.
- Réponses douteuses ou associées :
  - réponses positives et négatives associées : 2 laboratoires.

Informations disponibles au 06/09/1994 après exploitation des correspondances des participants et correction des erreurs de transcription.



## HEPATITES VIRALES ET FEMMES ENCEINTES

F. DENIS

CAHIER  
DE  
**Formation**  
version numérique

*Un tableau d'hépatite (clinique et/ou biologique) rencontré lors d'une grossesse pose plusieurs types de problèmes. La découverte d'anomalies hépatiques chez une femme enceinte doit en faire discuter l'origine, sont-elles liées à la grossesse ou relèvent-elles d'une pathologie hépatique intercurrente ?*

*Si les pathologies gravidiques suivantes peuvent être retrouvées : stéatose, toxémie, cholestase aiguë, les virus constituent en fait la cause la plus fréquente des ictères au cours de la grossesse.*

*Il est important de poser un diagnostic étiologique et d'identifier le virus responsable, l'hépatite pouvant engager le pronostic maternel et retenir sur l'enfant avec parfois un risque de contamination verticale. Le rôle du laboratoire dans cette étape est essentiel.*

*Une fois le virus impliqué identifié, on évalue le risque de transmission verticale et on tente de le prévenir par des mesures générales ou spécifiques, la connaissance de l'agent responsable permet aussi de mettre en œuvre si nécessaire des explorations de l'entourage immédiat de la femme enceinte et une prévention pour les sujets non contaminés.*

*Si de nombreux virus peuvent être impliqués dans les hépatites (Herpès-virus, virus des fièvres hémorragiques africaines, arbovirus...) quand on utilise le terme virus des hépatites on se limite en fait au virus A, B, C, D, E...*

*Contrairement à ce que l'on pensait initialement, tous ces virus n'ont aucune parenté entre eux. Ils appartiennent à des familles et ont des caractéristiques différentes (Tableau I). Ils diffèrent également par leur mode de transmission (Tableau II), mais ont en commun un tropisme privilégié pour le foie, et sont de culture difficile ou impossible. Cette dernière caractéristique a retardé les découvertes concernant ces virus, mais les progrès récents de la biologie moléculaire ont fait faire depuis ces cinq dernières années, un bond en avant décisif dans la connaissance des virus, dans la mise au point de tests de diagnostic et dans certain cas dans l'instauration de méthodes préventives spécifiques voire de vaccins.*

*Compte tenu des développements récents de ces virus pour les femmes enceintes, il est apparu nécessaire de faire une revue concernant les problèmes posés par les virus des hépatites dans le contexte particulier de la grossesse.*

**Tableau I : Liste et principales caractéristiques des virus des hépatites**

SIGLE VIRUS	ANNEE DECOUVERTE	"AUTEUR"	TAILLE n m	ACIDE NUCLEIQUE	ENVELOPPE	TAXONOMIE
VHA	1960	Krugman	27	ARN	NON	Picornavirus
VHB	1963	Blumberg	42	ADN	OUI	Hépadnavirus
VHC	1989	Houghton	50-60	ARN	OUI	Flavivirus
VHD	1977	Rizzeto	28-35	ARN	OUI	Viroïde
VHE	1989	Bradley	32-34	ARN	NON	Calicivirus
VH?	1991	Philips	150-250	ARN	OUI	Paramyxovirus

**Tableau II : Mode de transmission des virus des hépatites**

VIRUS DES HEPATITES	TRANSMISSION			
	Oroféciale	Parentérale	Sexuelle	Verticale
A	OUI	NON	NON	NON
B	NON	OUI	OUI	OUI
C*	NON	OUI	OUI	FAIBLE
D	NON	OUI	INCONNUE	NON
E*	OUI	NON	NON	NON

\* *ex non A - non B*

## VIRUS DE L'HEPATITE B ET FEMMES ENCEINTES

F. DENIS et S. ROGEZ-RANGER

*Depuis la détection en 1970 du virus de l'hépatite B, la mise au point d'immunoglobulines spécifiques, la commercialisation de vaccins efficaces en 1981, plasmatiques, puis obtenus par génie génétique, a permis de mettre en œuvre une prévention spécifique de la maladie, utilisable pour rompre la transmission verticale de l'hépatite B.*

### RAPPEL SUR LE VIRUS ET LE DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE

Le virus de l'hépatite B est un virus à ADN, icosaédrique, enveloppé de 42 nm, appartenant à la famille des hépadnavirus.

Ce virus présent à des titres élevés dans le sang est également décelé dans le sperme, les sécrétions génitales, la salive, le lait maternel... la présence du virus dans la quasi-totalité des liquides biologiques explique les modalités de transmission du virus.

Classiquement, la transmission du virus de l'hépatite B était considérée comme presque exclusivement liée au sang et à ses dérivés (transfusion, drogues IV, tatouages, piqûres accidentelles...), mais la transmission sexuelle longtemps méconnue occupe une place croissante (c'est une vraie MST), la transmission par contact est sous-estimée et la transmission verticale fait l'objet de la présente revue.

Pour porter un diagnostic virologique d'hépatite B, on dispose de toute une batterie de marqueurs directs ou indirects.

Le diagnostic direct repose en routine sur la recherche sérique d'antigènes viraux (antigène d'enveloppe : Ag HBs ou lié au core : Ag HBe ). La recherche d'ADN viral (HBV-DNA) prend un intérêt croissant, la recherche se fait par hybridation chaude ou froide, cet ADN est quantifiable en pg ; le recours à une amplification génique (polymerase chain reaction ou PCR) n'est pas indispensable en routine, du fait des fortes densités virales. La recherche de la réponse immune repose sur la mise en évidence d'anti-HBc qui signe l'infection virale, mais qui ne préjuge pas de l'évolution, d'anti-HBs anticorps anti-enveloppe signant une guérison et/ou une protection, et anti-HBe.

Les recherches d'antigènes et d'anticorps HBV sont réalisées en routine par techniques immuno-enzymatiques (ELISA). Les techniques radio-immunologiques (RIA) ont été longtemps considérées comme une référence. Pour l'Ag HBs, la recherche par technique immunologique a maintenant 20 ans d'âge.

Sont en faveur d'une répllication virale la présence sérique d'ADN viral/d'Ag HBs et classiquement d'Ag HBe. la corrélation ADN-HBV+/Ag HBe+ et ADN-/anti-HBe+ est prise en défaut dans un certain nombre de cas, notamment chez des sujets originaires du pourtour méditerranéen.

### RAPPEL SUR L'EVOLUTION DE L'INFECTION VIRALE

Après une incubation allant de 1 à 3 semaines survient une hépatite aiguë B chez l'adulte, elle est rarement fulminante (moins de 1%), parfois clinique (40%), souvent asymptomatique (60%). Symptomatique ou non, l'évolution se fait vers la chronicité dans 10% des cas, une partie des porteurs chroniques évoluant vers une hépatite chronique active, cirrhose et cancer primitif du foie.

Le taux d'évolution vers la chronicité varie avec l'âge où l'hépatite B a été contractée (Figure 1).

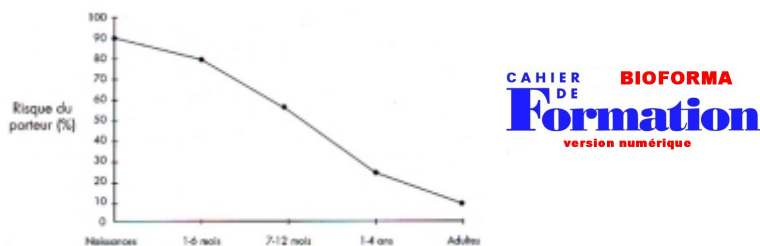


Figure 1 Evolution du risque de portage chronique du virus B en fonction de l'âge de contamination

Le risque est donc optimal pour l'enfant et surtout le nouveau-né. Les forts taux de prévalence de l'Ag HBs observés chez l'adulte dans certaines zones géographiques (10, 20 voire 25%) tiennent à une contamination virale intense et à des contaminations qui se sont produites durant la petite enfance.

## ■ HÉPATITE B ET FEMMES ENCEINTES

**La séroprévalence** (du portage du virus de l'hépatite B appréciée par la recherche de l'Ag HBs) a été évaluée sur la quasi-totalité de la planète. Les femmes enceintes du sud-est asiatique ou d'Afrique sub-saharienne présentent des prévalences très élevées dépassant 10 voire 20%. Les prévalences sont moindres au Maghreb ou en Egypte (environ 5%). Aux Etats-Unis, le taux d'Ag HBs va, selon les études, de 0,3% à 1,3% avec une prévalence moyenne de 0,8% ;. au Canada, à l'occasion d'enquêtes portant sur près de 100.000 femmes enceintes, des prévalences allant de 0,12 à 0,34% ont été rapportées.

En Europe, il existe un gradient Nord-Sud, les pays nordiques étant à faible prévalence et le pourtour méditerranéen étant beaucoup plus concerné. Italie 2% à Padoue, Espagne 0,6% dans la province du Guipuzcoa.

La France se situe en situation intermédiaire avec une forte variation au sein de l'hexagone selon les zones géographiques. En région parisienne, Roudot-Thoraval fait état d'une prévalence de 1,56% et Soulié de 2,3%. En zone lyonnaise, Descos trouve un chiffre voisin de 1,81%. Dans l'enquête que nous avons menée en 1992, les taux trouvés à Paris-Bichat et Montpellier sont très élevés, avec respectivement 2,4% et 3,0%, mais ces chiffres sont sans rapport avec ce qui est observé dans des métropoles de moindre importance, puisqu'on trouvait à Clermont-Ferrand et Limoges respectivement 0,32 et 0,13%. Ces taux ne peuvent sûrement pas être extrapolés au reste de la France car les séroprévalences trouvées en zone rurale, ou dans les cliniques privées sont inférieures à ces valeurs rencontrées en milieu hospitalier.

Les séroprévalences chez les femmes enceintes varient :

- au cours du temps, ainsi sur un suivi de 10 ans à Limoges, la prévalence varie de 0,13% à 0,88% selon les années,
- selon l'origine géographique des femmes enceintes. Cela ressort nettement du tableau I.

**Tableau I : Séroprévalence de l'Ag HBs chez les femmes enceintes en fonction de leur origine géographique dans des études de Soulié (6.605 femmes enceintes) et de Denis (14.902 femmes enceintes à Limoges et 21.500 pour la multicentrique)**

Lieu de naissance	Région parisienne (Soulié)	Limoges (Denis)	Multicentrique française (Denis)
Métropole	0,82%	0,25%	0,15%
DOM-TOM	3,1%	4,5%	NP
Afrique du Nord	2,0%	1,2%	1,7%
Afrique Noire	7,8%	5,9%	4,9%
Asie	5,0%	7,0%	5,6%
Autre	2,5%	0 %	0,8%

Dans notre enquête multicentrique nationale en 1992, nous avons trouvé 0,15% pour les français d'origine et 2,6% pour les femmes d'origine étrangère. Selon la proportion des femmes immigrées dans les populations étudiées, on comprend aisément que la prévalence de l'Ag HBs varie, ainsi à Limoges, les femmes immigrées représentent 13% de l'ensemble contre 47% en région parisienne. Cette composition "géographique" de la population a non seulement une incidence sur la séroprévalence (le plus souvent la séroprévalence observée est voisine de celle du pays d'origine), mais aussi sur le taux de transmission. En effet, le pourcentage de femmes Ag HBe parmi les Ag HBs positives varie selon l'origine. Il est de 30 à 50% pour les femmes du sud-est asiatique, de 10 à 20% pour les africaines et de 7 à 12% pour les européennes.

Dans l'étude de Roudot-Thoraval, 15% des femmes Ag HBs+ possédaient des marqueurs de répllication Ag HBe et/ou ADN+, 14% dans l'étude de Soulié étaient Ag HBe+ et 30,7% à Limoges. Dans la récente enquête que nous avons menée sur 12 CHU, le pourcentage de femmes A HBe et/ou ADN+ est de 16%.

En outre les prévalences de l'AgHBs varient :

- selon les niveaux socio-économiques, les prévalences étaient plus élevées dans les milieux pauvres et/ou la densité de l'habitation est élevée (Soulié),
- selon la parité, mais là encore multiparité, conditions de vie et habitudes culturelles se rejoignent souvent. A Limoges, la séroprévalence de l'Ag HBs passe de 0,35%, pour les primipares à 2,16% pour les cinquièmes pares,
- les antécédents de transfusion ou d'ictère par contre ne sont pas significativement corrélés avec une plus forte prévalence de l'Ag HBs (Soulié).

#### Statut clinique des femmes enceintes Ag HBs positives

Les femmes enceintes trouvées Ag HBs+ sont dans leur très grande majorité des porteuses chroniques du virus, l'hépatite B aiguë en cours de grossesse étant l'exception. On considère que :

- les hépatites aiguës survenues dans le 2ème et surtout le 3ème trimestre de la grossesse ou du post-partum sont rares, il y aurait moins de 500 cas annuels en France. Sont donc concernées par cette situation, environ 4,2% des Femmes enceintes Ag HBs+ et 0,06% de toutes les femmes enceintes en France. Dans ces cas la virémie est massive en fin de gestation et/ou au moment de l'accouchement.
- Les hépatites chroniques concernent toutes les autres femmes (95,8%). Pour Soulié chez ces porteuses chroniques, les transaminases sont normales dans 98% des cas et, pour moins de 2% de, ces femmes, il existerait. une élévation des transaminases et des altérations biologiques du foie.

#### La transmission proprement dite

Plusieurs chronologies de la transmission sont envisageables.

La transmission in utero est probablement très rare. Elle pourrait survenir au 2ème ou 3ème trimestre de la grossesse, aucun cas d'hépatite aiguë résolutive n'a été signalé lors du 1er trimestre. On estime que cette modalité ne concerne que 5 à 10% des cas de transmission verticale. La présence de marqueurs HBV dans le sang du cordon ne constitue pas une preuve, la contamination du cordon (par l'Ag HBs ou l'ADN) pourrait provenir d'une contamination perinatale.

Si cette modalité est rare, elle existe néanmoins. En effet, l'ADN viral a été détecté dans des hépatocytes de fœtus examinés après avortement, de l'ADN a été trouvé par PCR par Mitsuda dans le sang du cordon d'enfants nés de mère Ag HBs+ et PCR+, mais comme cela a été dit la preuve n'est pas formelle, Enfin, l'accouchement par césarienne abaisserait pour Lee significativement la transmission verticale (10% contre 25% ), cette constatation n'est pas faite par d'autres auteurs.

La transmission périnatale et plus précisément perinatale constitue l'essentiel de la transmission.

Au moment de l'accouchement, l'enfant est contaminé à l'occasion de microtransfusions maternofoetales qui se produisent pendant le travail. A la voie sanguine, s'associe le risque de contamination du fœtus par les sécrétions vaginales, durant son passage dans la filière génitale.

L'Ag HBs est retrouvé dans 50% des sangs du cordon, dans 35% des liquides amniotiques et dans 95% des liquides gastriques des enfants nés de mères Ag HBs+. L'enfant reçoit et est en contact avec du sang maternel, il ingère des sérosités riches en virus et baigne dans celles-ci.

Il peut donc être contaminé par transfusion physiologique, par contact avec sang et sécrétions génitales maternelles et le virus peut pénétrer dans l'organisme par voie transcutanée à la faveur d'érosions cutanées, voire par ingestion.

Le risque de transmission est étroitement lié au statut maternel vis-à-vis du virus de l'hépatite B selon que la mère possède ou non des marqueurs d'infectiosité (Tableau II).

**Tableau II : Evaluation du risque pour le nouveau-né d'être infecté en fonction du statut HBV maternel.**

Statut sérologique maternel pour l'HBV		Risque Pour le nouveau-né d'être infecté par l'HBV
Ag HBs+	Ag HBe+ et/ou ADN+	90-100%
	Anti-HBe+ et/ou ADN-	20%
Ag HBs-	Anti-HBc+	Minime
	Anti-HBs+	0%

La recherche de l'HBV-DNA est positive chez certaines femmes Ag HBe- voire anti-HBe+, ce qui prouve que les anti-HBe ne signifient pas systématiquement une absence de répllication.

Plaide en faveur de ce mode de transmission périnatale le fait que la séroprévention est efficace quand elle est administrée dans les heures qui suivent la naissance et que, en l'absence de prévention, les risques de la maladie surviennent dans les délais identiques (en moyenne une centaine de jours) à ceux de l'incubation de la maladie observée chez l'adulte après contamination sanguine.

La transmission postnatale a une importance difficile à évaluer, elle est possible lors de l'allaitement soit par le lait lui-même, soit du fait d'excoriations ou d'abcès présents au niveau du mamelon de la mère. Mais le contact étroit avec la mère (ou un entourage également porteur du virus) peut aussi être contaminant (salive, lésions cutanées).

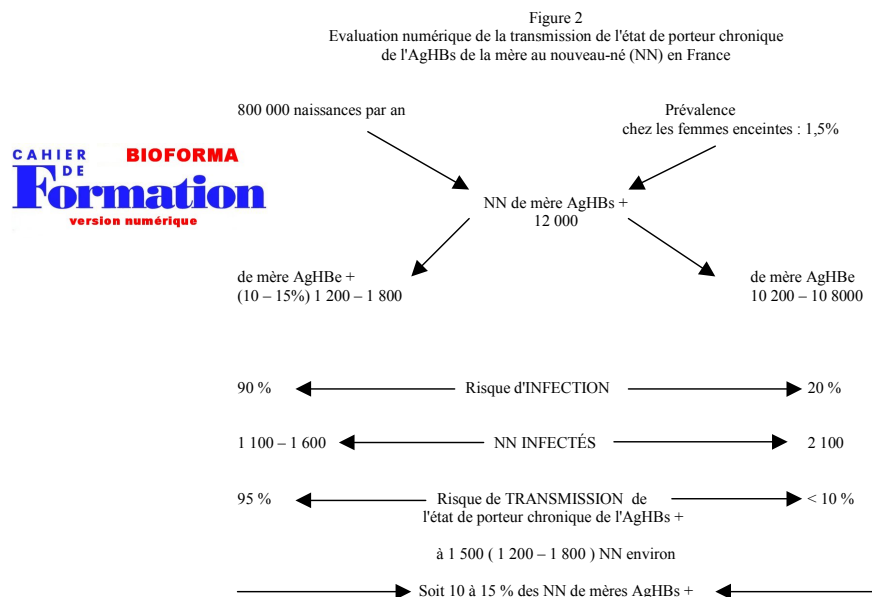
La contagiosité postnatale des mères est là encore fortement corrélée avec la présence d'Ag HBe et/ou d'ADN de l'HBV. Ainsi, chez les enfants qui ne sont protégés que par des immunoglobulines à la naissance mais non vaccinés, le taux de contamination après l'âge de 1 an est selon Beasley, de 60% si la mère est Ag HBe+ contre 20% si elle est Ag HBe-.

**L'efficacité de la transmission** varie selon le type d'hépatite maternelle. Si on se trouve devant une hépatite B aiguë survenant en fin du dernier trimestre de la grossesse ou du premier mois suivant l'accouchement la virémie étant intense et la contagiosité maximale, le taux de contamination est voisin de 90%. Si la mère est porteuse chronique le taux de transmission varie selon que la mère présente des marqueurs d'infectiosité ou non, marqueurs dont la fréquence est souvent corrélée avec l'origine géographique de celle-ci. Nous avons vu que dans trois études françaises, les mères Ag HBe et/ou ADN+ représentent entre 15% et 30% de toutes les femmes Ag HBs+.

**Tableau III : Risque de transmission néonatale du VHB en fonction du profil sérologique de la mère**

Sérologie de la mère	Taux de transmission
Ag HBs+, Ag HBe+/ADN+	95 à 100%
Ag HBs+, anti-HBe+/ADN-	10 à 20%
Ag HBs-, anti-HBs-, anti-HBc+	-10%

Dans une tentative d'estimation du risque de transmission réalisée par Soulié et concernant la France (Figure 2), en tenant compte d'une prévalence moyenne de 1,5% et d'un pourcentage d'Ag HBe de 10-15%, on arrive à un nombre annuel d'enfants contaminés par l'HBV compris entre 1200 et 1800, en l'absence de mesures préventives. Une estimation personnelle fait état de chiffres plus faibles.



## CONSEQUENCES DE L'INFECTION VHC POUR LA MERE ET POUR L'ENFANT

Pour la mère, l'évolution clinique des formes aiguës ou chroniques ne semble pas modifier, tout au plus un nombre plus important d'accouchements prématurés a-t-il été rapporté.

Le virus n'a pas d'effet tératogène, on n'a décrit ni fœtopathie ni embryopathie due à l'HBV. Pour le nourrisson, l'infection périnatale cause rarement (5 à 7% des cas) une hépatite aiguë symptomatique, suivie d'une guérison. Chez lui, encore plus exceptionnellement que chez l'adulte, l'évolution se fait vers une forme grave ou fulminante. Mais chez 90% des nouveau-nés infectés, l'évolution se fera vers le portage chronique sans apparition d'ictère. Au cours de trois premières années, ils présentent une élévation plus ou moins marquée de l'ALAT, la biopsie hépatique confirme une hépatite chronique persistante. Dans l'étude de Tong, près des deux tiers des enfants présentant dès la 10ème année des signes cliniques d'atteinte hépatique, évoluent vers la cirrhose et le cancer primitif du foie avec un pic se situant entre les âges de 30 et 40 ans. Le risque vital d'évolution vers la cirrhose ou le cancer primitif du foie est évalué à plus de 40%.

Il faut donner quelques précisions quant à la transmission des marqueurs B de la mère à l'enfant. Comme il a été dit, il est préférable de rechercher l'Ag HBs et l'ADN viral dans le sang périphérique plutôt que dans le sang du cordon. L'antigénémie ou la virémie peuvent être transitoires, disparaissant en quelques jours, faisant penser plus à une transfusion qu'à une infection in utero.

Chez les enfants infectés, l'Ag HBs et/ou l'ADN de l'HBV peuvent rester présents, ou bien disparaître et réapparaître 1 à 5 mois plus tard.

Les anti-HBc (IgG) maternels franchissent passivement le placenta et pratiquement tous les enfants nés de mères infectées possèdent des anti-HBc dans leur sérum (86% dans notre expérience portent sur 476 sujets) et ces anticorps peuvent être retrouvés plusieurs mois après la naissance, sans présager d'une contamination. Par contre, il n'a pas été trouvé d'enfants possédant à la naissance des anti-HBc dans la fraction IgM, ce qui avait fait penser très tôt à une très faible contamination in utero.

A noter également que chez les mères qui ont rencontré le virus de l'hépatite B et qui ont guéri et produit des anti-HBs, le taux de détection des anti-HBs chez les nouveau-nés est compris entre 75% et 85%. Le suivi d'enfants nés de mères vaccinées avait montré qu'à l'âge de 3 mois, seulement 20% d'entre eux possédaient encore un titre protecteur (anti-HBs transmis passivement) supérieur à 10 mUI/mL.

Il faut souligner la difficulté rencontrée pour suivre la sérologie des enfants nés de mères Ag HBs et sérovaccinés. Seul un suivi cinétique permet de faire la part des anticorps passifs provenant des immunoglobulines et de ceux produits à la suite de la vaccination. Les anticorps peuvent masquer l'Ag HBs dans les rares échecs de la vaccination et l'apparition de l'Ag HBs (voire d'ADN) et la réapparition des Ag HBs et anti-HBc au cours des mois suivants, prouveront cet échec.

## MESURES PREVENTIVES

On peut prévenir la transmission verticale dans la mesure où on a la chance que l'essentiel de la contamination se situe ait moment de l'accouchement, aussi si on démarre la prophylaxie dans les heures (moins de 48 heures) qui suivent la naissance par des gammaglobulines spécifiques anti-HBs d'une part et par la vaccination d'autre part, on entre en compétition avec le virus et on évite l'infection. A noter que gammaglobulines et vaccin doivent être administrés dans des sites différents. Cette prophylaxie reste sans effet pour les 5 à 10% de transmissions in utero, mais protège pratiquement la totalité des 90 à 95% des enfants contaminés dans la période péri-, per- voire postnatale.

Mais pour pouvoir instituer une telle prévention il est indispensable d'avoir identifié à l'avance les mères Ag HBs+ ; cette recherche systématique a été décidée par le décret n° 92-143 du 14 Février 1992 relatif aux examens obligatoires prénuptiaux, qui stipule qu'« au cours du quatrième examen prénatal (sixième mois de grossesse), un dépistage de l'antigène HBs doit être effectué ». En cas de risque particulier (femme toxicomane, partenaire à risque), on peut être amené à répéter cette recherche de l'Ag HBs en fin de grossesse, mais ce n'est pas stipulé dans les textes.

Certains s'arrêtent là, d'autres cherchent à savoir si la mère est à très haut risque de transmission et effectuent la recherche des marqueurs "e" (Ag HBe, anti-HBe) et éventuellement dans une perspective curative l'ADN de l'HBV.

Des recommandations pratiques de prophylaxie spécifique ont été données pour les cas généraux par P. Begué et C. Route dans le BEH du 09 Décembre 1991, elles sont regroupées dans le tableau IV. Dans le cas particulier des mères Ag HBe+ et/ou ADN+, certains auteurs préconisent un schéma différent avec injection à la naissance de 200 UI d'immunoglobulines spécifiques, éventuellement renouvelée au moment de la deuxième injection de vaccin. Un consensus n'est pas encore établi sur ce point.

**Tableau IV : Protocole de séroprophylaxie proposé pour les nouveau-nés de mères Ag UBs positives.**

<i>Protocole de sérovaccination</i>
A la maternité <b>dans les 12 à 24 heures :</b>
- <b>une injection de HBIG à 100 UI et</b>
<b>1ère injection de vaccin contre l'hépatite B</b>
Ultérieurement :
- <b>1 mois : 2ème injection contre l'hépatite B</b>
- <b>2 mois : 3ème injection contre l'hépatite B</b>
- <b>12 mois : injection de rappel</b>

Il est hautement recommandé de commencer l'injection des immunoglobulines en salle de travail.

Les immunoglobulines anti-HBs sont fournies par les centres de transfusion sanguine, les vaccins plasmatiques ont, dans les pays riches, été pratiquement abandonnés au profit de vaccins obtenus par génie génétique produits par des levures (Engerix B) ou sur cellules de mammifères CHO (Genhevac B).

Les rappels vaccinaux de ces enfants ne doivent pas être oubliés au bout d'un an puis tous les 5 ans.

L'efficacité de la sérovaccination est comprise entre 90 et 100%.

On peut noter à ce propos que si Beasley avait, dès 1978, prouvé que les immunoglobulines spécifiques pouvaient prévenir la transmission, il revient à notre groupe animé par Philippe Maupas, d'avoir prouvé pour la première fois au monde, l'immunogénicité du vaccin pour le nouveau-né.

Il semble préférable de ne pas autoriser l'allaitement maternel pour les mères Ag HBs+. Il va de soit que les lactariums doivent éliminer du don du lait les femmes qui seraient Ag HBs+.

Il ne faut pas oublier en plus de cette prophylaxie destiné au nouveau-né de s'intéresser à l'entourage de la femme enceinte, de rechercher chez les sujets contacts les marqueurs de l'HBV pour protéger à leur tour les personnes qui n'auraient pas déjà rencontré le virus, et prendre en charge les porteurs du virus.

Certains ont tenté de calculer le rapport coût/efficacité de cette prophylaxie de la transmission verticale. Selon Soulié en 1991, le coût annuel du dépistage était estimé à 108 millions de francs, et le coût par cas prévenu de l'ordre de 180.000 francs en première approche. Notons pour mémoire, qu'une enquête effectuée dans la zone Rhône-Alpes avait estimé le coût d'une hépatite B professionnelle à 110.000 francs. Mais dans l'avenir ne pourra se contenter de cette stratégie et on devra passer à la vaccination systématique des nouveau-nés combinés au rattrapage des "déjà nés", la vaccination des adolescents, des groupes à risque.

## ■ CONCLUSION

A ce jour on ne dispose pas d'autres situations dans l'espèce humaine, on l'on puisse prévenir une transmission verticale d'un virus par une sérovaccination. La mise en place du dépistage de l'Ag HBs systématique chez les femmes enceintes en France en 1992 rend possible la rupture de la chaîne de transmission verticale de l'HBV et doit permettre d'éviter chaque année plus de 1000 hépatites B chroniques de l'enfant.

Cette vaccination est aussi la seule qui permette à ce jour d'éviter un processus cancéreux (le cancer primitif du foie).

L'hépatite B constitue un problème à l'échelon planétaire et la vaccination généralisée est envisagée avant l'an 2000. Il faut espérer que la France longtemps leader dans le domaine de l'hépatite B, suivra sans attendre, les exemples des USA, du Canada, de l'Espagne, de l'Italie et d'un certain nombre de pays en voie de développement qui ont commencé la vaccination généralisée.

## BIBLIOGRAPHE

Il s'agit d'une bibliographie très sommaire, compte tenu de l'abondance de la littérature sur le sujet.

- 1- BARIN F, GOUDEAU A., DENIS F., COURSAGET P. et al, Hepatitis B vaccine ; immune response, in neonates. Lancet 1982, i, 251-253



- 2- BEASLEY R.P., HWANG L.Y., LIN C.C., STEVENS C.E. et al. Hepatitis B immune globulin (HBIG) efficacy in the interruption of perinatal transmission of Hepatitis B virus carrier state. *Lancet* 1981, ii, 388-393
- 3- BEGUE P., ROURE C. Vaccination contre l'hépatite B des enfants nés de mères antigène HBs positif. Recommandation du Comité technique des vaccinations. *BEH* 1991, 49, 213-214
- 4- DENIS F., TABASTE J.L., RANGER S., POMMIER J.C. et coll. Prévalence de l'Ag HBs chez 21.500 femmes enceintes de 12 CHU. 13ème Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse (RICAI), Paris 1993, Abstract 264/P15-P221
- 5- DESCOS B., SCOTTO J., FAYOL V. et al. Anti-HBs screening for the prevention of perinatal transmission of hepatitis B virus in France. *Infection* 1987, 15, 434-439
- 6- GOUDEAU A. Transmission mère-enfant du virus de l'hépatite B. Perspectives de prévention de l'infection néonatale. *Presse Méd.* 1982, 11, 3051-3054
- 7- GOUDEAU A., YVONNET B., LESAGE G., BARIN F., DENIS F., COURSAGET P., DIOP MAR I. Lack of anti-HBc IgM in neonates with HBs Ag carrier mothers argues against transplacental transmission of hepatitis B virus infection. *Lancet* 1983, ii, 1103-1104
- 8- LEE S.D., LO K.J., TSAY Y.T., WU J.C. et al. Role of caesarian section in prevention of mother-infant transmission of hepatitis B virus. *Lancet* 1988, ii, 833-834
- 9- MITSUDA T., YOKOTA S., MORI T., IBE M. et al. Demonstration of mother-to-infant transmission of hepatitis B virus by means of polymerase chain reaction. *Lancet* 1989, ii, 886-888
- 10- SOULIE J.C. Infection précoce par le virus de l'hépatite B. I - Transmission du HBV et les conséquences. *Concours Méd.* 1992, 7 Mars, 656-659
- 11- SOULIE J.C. Infection précoce par le virus de l'hépatite B. II - Dépistage et prévention : les enjeux. *Concours Méd.* 1992, 14 Mars, 736-740
- 12- SOULIE J.C. Hépatites virales et périnatalité. *L'Eurobiologiste* 1993, 27, 171-175
- 13- SOULIE J.C., GOUDEAU A., LARSEN M., PARNET F. et coll. Prévention de la transmission périnatale du virus de l'hépatite B. Epidémiologie et rapport coût/efficacité dans la région de Paris, *Presse Méd.* 1991, 20, 939-944
- 14- RANGER S., MOUNIER M., DENIS F., ALAIN J. et coll. Prévalence des marqueurs des virus des hépatites B (Ag HBs, Ag HBc, ADN) et delta chez près de dix mille femmes enceintes à Limoges (France). *Path. Biol.* 1990, 38, 694-699
- 15- ROUDOT-THORAVALL F., KOUADJA F., WIRQUIN V., THIERS V. et coll. Prévalence du portage de l'antigène HBs et des marqueurs de réplication virale B dans une population de femmes enceintes en France. *Gastro-entérol. Clin. Biol.* 1978, 13, 353-356



## VIRUS DE L'HEPATITE C ET FEMMES ENCEINTES

F. DENIS et Ph. MARTIN

CAHIER DE  
**Formation**  
version numérique

*Le virus de l'hépatite C, virus de découverte récente (1989) est essentiellement transmis par le sang et ses dérivés (transfusion, drogue IV, tatouages, piqûres accidentelles...), la transmission sexuelle est discutée et la transmission verticale commence seulement à être connue, nous tenterons de faire le point sur le sujet en sachant qu'il est en pleine évolution.*

### RAPPEL SUR LE VIRUS ET LE DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE

Le virus de l'hépatite C est un virus à ARN, enveloppé de 50 à 60 nm, apparenté aux Flavivirus, aux Pestivirus ou à certains virus des plantes.

Ce virus est fréquent à ces concentrations allant de 104 à 107 particules/ml, dans le sang des sujets infectés au stade aigu ou chronique.

La présence du virus a également été décelée dans les sécrétions génitales.

Le diagnostic virologique comporte deux approches :

- l'une directe, délicate ou coûteuse, reposant essentiellement sur la mise en évidence du génome viral dans le sérum en utilisant l'amplification génique (polymerase chain reaction ou PCR), cette approche permet seule de prouver la virémie.

La détection du génome viral par PCR est possible dans les jours qui suivent la contamination, donc bien avant l'apparition des éventuels signes cliniques et l'élévation des transaminases.

- L'autre indirecte, sérologique, utilisable en routine où l'on recherche les anticorps anti-hépatite C avec deux étapes, l'une de détection par méthode immuno-enzymatique (ELISA) des anticorps dirigés contre différents antigènes structuraux et non structuraux, l'autre de "confirmation" pour vérifier la spécificité du test de dépistage, utilisant essentiellement des immunoblots, permettant l'identification précise des antigènes reconnus (RIBA, Matrix, etc.). Ces tests permettent un classement en résultats positifs, négatifs et indéterminés. Dans tous les cas, la sérologie ne se positive qu'après plusieurs semaines avec des extrêmes allant de 4 à 40 semaines, l'apparition des anticorps survient après la montée des transaminases.

Dix pour cent des hépatites C chroniques sont réputées séronégatives.

On ne dispose malheureusement pas pour l'hépatite C de marqueurs sérologiques de chronicité ou de guérison.

### RAPPEL SUR L'EVOLUTION DE L'INFECTION VIRALE

Après une incubation de 7 à 9 semaines (extrêmes 2 à 26 semaines) surviennent des hépatites aiguës C, parfois symptomatiques (5%) le plus souvent asymptomatiques (95%) qui évoluent souvent vers la chronicité (60% de toutes les infections) et éventuellement vers des infections chroniques actives, des cirrhoses et des hépatocarcinomes.

### HEPATITE C ET FEMMES ENCEINTES

**La séroprévalence HCV** chez les femmes enceintes varie selon les zones géographiques.

Dans le sud asiatique, elle va de 0,09 à 0,63% à Taiwan, elle est de 0,5 au Japon, et atteint 7,3% à Hong Kong.

Dans le pourtour méditerranéen, la prévalence chez les femmes enceintes est faible en Afrique du Nord, élevée au Yémen : 3,3% ou en Egypte: 4,3%, plus faible en Italie (2%) ou en Espagne (1,25%).

En Afrique sud saharienne, des prévalences allant de 0 à 7% ont été rapportées. En France, les séroprévalences varient selon les populations étudiées, allant de 0,75% dans le Puy de Dôme à 3,8% en région parisienne, la séroprévalence est en fait liée étroitement à la proportion de femmes enceintes d'origine étrangère vivant et accouchant en France ; à Limoges, la séroprévalence étant de 0,6% pour celles qui sont françaises d'origine, et de 1% pour celles qui sont d'origine étrangère (Afrique du Nord : 1,9%, Afrique noire : 4,8%, Asie du Sud-Est : 1,8%, dans le Puy de Dôme, la séroprévalence est de 3% chez les femmes d'origine étrangère (Europe du Sud : 4%, Maghreb : 0,8%, Afrique noire : 5%).

Les enquêtes reposant sur des séroprévalences confirmées montrent que le risque, si risque il y a de transmission verticale, n'est pas nul en France.

Dans notre expérience, entre 50 et 60% des mères ayant des profils HCV confirmés sont virémiques et chez les 10 à 20% des femmes présentant des profils indéterminés la virémie est très rare.

- La transmission proprement dite peut théoriquement se produire soit in utero, soit au moment de l'accouchement, soit après l'accouchement (contact, allaitement).

Elle peut s'effectuer à l'occasion d'une hépatite C aiguë du 3ème trimestre ou du post-partum, mais le plus souvent au cours d'une hépatite C chronique.

L'interprétation des résultats publiés concernant cette transmission n'est pas simple, du fait de la variabilité des échantillons, de leur taille et des modalités d'exploration des mères et des nouveau-nés. La recherche de la contamination du nouveau-né doit se faire à la naissance (sur sang périphérique plutôt que sang du cordon) et de manière séquentielle sur un an à la recherche du génome viral par PCR et par sérologie.

En l'absence d'infection, les anticorps maternels transmis passivement au nouveau-né, disparaissent progressivement (environ 50% de positivité à l'âge de 4-5 mois, 10% vers le neuvième mois, et disparition à l'âge de un an).

La recherche d'une synthèse d'anticorps propres aux nouveau-nés est d'interprétation délicate, et certains enfants infectés semblent incapables de produire des anticorps bien que virémiques depuis plusieurs mois.

Dans notre expérience, il est exceptionnel de déceler dans le sang des nouveau-nés des anti-HCV dans la fraction IgM.

Il apparaît que la transmission verticale existe, certains cas indiscutables l'ont prouvé, mais cette transmission est influencée par le statut de la mère, la transmission est plus élevée selon que la mère est ou non virémique, selon qu'elle est en même temps infectée ou non par le virus du SIDA. La transmission verticale de l'HCV serait plus fréquente si les mères sont séropositives.

Un travail très récent dû à Ohto et coll., portant sur des mères anti-HCV positives, a montré que la transmission n'était retrouvée que si la mère était virémique, et que cette transmission était corrélée avec la charge virale retrouvée chez la mère ; ainsi le titre d'HCV-RNA/ml était en moyenne de 104,4 chez les mères dont les enfants n'étaient pas infectés contre 106,4 chez celles qui avaient contaminé leur enfant. Un autre travail dû à Lin et coll. va dans le même sens.

Par ailleurs, la transmission verticale de l'HCV serait plus fréquente si les mères sont séropositives.

Ainsi, d'après une revue de la littérature portant sur des enfants nés de mère anti-VHC positives et VIH négatives (Thaler, Novati, Roudot-Thoraval, Tanzi, Ericilla, Lam...), le taux de transmission est voisin de 14% (avec de très grosses différences selon que la mère est ou non virémique, et en fonction du titre viral), alors que sur un effectif de moitié concernant des enfants nés de mères à la fois anti-VHC et anti-VIH positives, la transmission atteindrait 25% (Bortuzzo, Jung, Kuroki, Tanzi, Wejstal, Ercilla, Kojima, Ohto, Marin, Nogata, Nir, Reinus, Roudot-Thoraval, Varagona...), ces taux de transmission étant estimés par PCR.

Si dans quelques cas la virémie est retrouvée dès la naissance, assez souvent celle-ci est retardée et les atteintes hépatiques sont différées, survenant chez quelques enfants au bout de 1 à 8 mois.

En postnatal, du fait de contacts étroits avec la mère et peut être par l'allaitement, les enfants peuvent aussi être contaminés. Si le virus est présent dans la salive, et le sang maternel, la recherche dans la colostrum et le lait reste le plus souvent négative.

## ■ CONSEQUENCES DE L'INFECTION VHC POUR LA MERE ET POUR L'ENFANT

Pour la mère, des travaux récents dus à Bortuzzo et Abergel ont confirmé ceux plus anciens de Wejstal montrant une normalisation transitoire des transaminases durant la grossesse, la cytololyse reprenant après l'accouchement sans que l'on sache actuellement si la normalisation des ALAT durant la grossesse est due à une diminution de la répllication virale ou à une modification hormonale, voire immunitaire.

Pour l'enfant, l'évolution est assez variable selon les cas et les auteurs, alors que pour Varagona et Ni, les nouveau-nés porteurs de VHC ne présentent pas d'élévation des enzymes hépatiques, pour Ercilla tous les enfants contaminés développent une hépatite aiguë à un âge compris entre 1 et 8 mois. Par ailleurs, pour Giovannini, les nourrissons nés de mères doublement infectées (VIH+, VHC+), l'évolution des enfants se ferait plus rapidement vers le SIDA s'ils sont co-infectés par le VHC.

Un certain nombre d'enfants porteurs du virus de l'hépatite C à la naissance ou ultérieurement, parviennent à se débarrasser du virus, d'autres sont virémiques sans développer d'anticorps. Il semble que si l'infection n'évolue pas vers une atteinte hépatique pour la majorité d'entre eux, un petit nombre développera une hépatite aiguë après quelques semaines ou mois.

Au total, on manque encore de données pour avoir une vision suffisante des conséquences de cette contamination sur du long terme.

## CONCLUSION ET MESURES CONCRETES

---

Le risque potentiel de transmission est loin d'être négligeable (0,6 à 4% des femmes enceintes, sont VHC+ en France). La transmission verticale du VHC existe, argumentée notamment par des comparaisons génomiques entre souches de la mère et de l'enfant, mais cette transmission est rare. Elle est plus fréquente si la mère est doublement infectée par le virus du SIDA et de l'hépatite C.

Les connaissances actuelles ne permettent pas de conseiller le dépistage systématique VHC chez les femmes enceintes, mais cela a été recommandé aux Etats-Unis. Un dépistage prénatal orienté peut être conseillé concernant les femmes enceintes présentant une hépatite, une séropositivité HIV, et celles provenant de zones géographiques à forte prévalence, les transfusées avant 1990, les toxicomanes.

Si le statut VHC positif d'une mère est connu, il est conseillé de prendre des précautions pour que le personnel médical soignant ne se contamine pas lors de l'accouchement, en l'absence de données complémentaires l'allaitement maternel doit être proscrit et l'enfant doit faire l'objet d'une surveillance sérologique et virémique à la naissance, à 1-6 et 12 mois.

Il n'existe à ce jour ni séroprévention ni vaccination spécifique permettant de prévenir la transmission.

Les travaux actuels encore insuffisants doivent être poursuivis pour déterminer le moment de la contamination, pour mieux évaluer le risque et les conséquences pour le nouveau-né, et éventuellement pour instituer un traitement antiviral pour les enfants infectés.

## BIBLIOGRAPHIE

---

- 1- AUSSEL L., DENIS F., RANGER S., MARTIN Ph. et coll. Recherche des anticorps contre le virus de l'hépatite C chez les femmes enceintes d'origine étrangère vivant en France. *Path. Biol.* 1991, 39, 991-996
- 2- BORTUZZO T. Etude de la transmission verticale du virus de l'hépatite C. Thèse de Médecine, Clermont-Ferrand 1993
- 3- DENIS F., MARTIN C., RANGER S. Diagnostic virologique des infections par le virus de l'hépatite C. *L'Eurobiologiste* 1992, 26, 231-234
- 4- LYNCH-SALAMON D.I., COMBS C.A. Hepatitis C in obstetrics and gynecology. *Obstet. Gynecol* 1992, 79, 621-629
- 5- MARTIN Ph., DENIS F. Transmission verticale du virus de l'hépatite C. *Pat. Biol.* 1994, in press.
- 6- LIN H.H., KAO J.H., HSU H.Y., NI Y.H. et al Possible role of high-titer maternal viremia in perinatal transmission of hepatitis C virus. *J. Inf. Dis.*, 1994, 169, 638-641
- 7- OHTO H., TERAZAWA S., SASAKI N., SASAKI N. et al Transmission of hepatitis C virus from mothers to infants. *New Engl. J. Med.*, 1994, 330, 744-750
- 8- ROUDOT-THORAVAL F., PAWLOTSKY J.M., THIERS V., DESFORGES L. et al. Lack of mother-to-infant transmission of hepatitis C virus in human immunodeficiency virus - seronegative women : a prospective study with hepatitis C virus RNA testing. *Hepatology* 1993, 17, 772-777
- 9- SOULIE J.C. Hépatites virales et périnatalité. *L'Eurobiologiste* 1993, 27, 171-175



## VIRUS DE L'HEPATITE A ET FEMMES ENCEINTES

F. DENIS

*Si la reconnaissance clinique de l'hépatite A remonte à 1940, le développement de tests sérologiques spécifiques n'est intervenu que dans la décennie 1970, l'épidémiologie s'est précisée dans la décennie suivante et un vaccin a été commercialisé en 1992.*

### RAPPEL SUR LE VIRUS ET LE DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE

Le virus de l'hépatite A appartient à la famille des picornavirus, il s'agit d'un petit virus de 27 à 32 nm, à ARN, de symétrie icosaédrique comportant 32 capsomères. Il n'existe qu'un seul sérotype.

Le virus est retrouvé essentiellement dans les selles où son excrétion est optimale 2 à 4 semaines après l'exposition, la virémie étant transitoire, à noter que l'excrétion dans les selles et la virémie précèdent l'ictère. Le diagnostic virologique peut comporter deux approches :

- l'une directe qui repose essentiellement sur la recherche d'antigènes HAV dans les selles, la culture du virus est impossible en routine, et la recherche d'ARN viral par amplification génique délicate,
- l'autre indirecte par recherche d'anticorps spécifiques est suffisante vu la précocité de l'apparition des anticorps, ceux-ci étant détectables presque au moment où les transaminases s'élèvent lors de l'apparition de l'ictère. La découverte d'IgM anti-HAV chez un sujet ictérique suffit pour faire la preuve du lien ictère-HAV, ces anticorps peuvent persister 8 à 12 semaines après le début de l'ictère. Au-delà, seules les IgG persistent, constituant en général un ultime stigmate de la maladie qui persistera jusqu'à la mort.

Devant un ictère, on peut soit rechercher les anticorps totaux (IgM + IgG anti-HAV), puis en cas de positivité explorer les IgM spécifiques, soit pratiquer d'emblée ce dernier dosage.

### RAPPEL SUR L'EVOLUTION DE L'INFECTION VIRALE

Après une incubation de 15 à 45 jours, suivant le contact avec le virus (direct par les mains souillées ou les selles, indirecte par ingestion d'aliments contaminés), survient classiquement une phase pré-ictérique avec asthénie intense et des signes de cytolyse qui se précisent.

Les formes anictériques sont plus fréquentes chez le jeune enfant (90-95%) que chez l'adulte (25-50%). La guérison est la règle, les formes fulminantes étant très rares.

Si des formes à rechute ont été signalées, il n'existe pas d'évolution vers la chronicité et vers le cancer primitif du foie.

Les formes compliquées (cholestatiques, biphases) sont plus fréquentes chez l'adulte que chez l'enfant, il en est de même dans les hépatites fulminantes.

Dans les pays occidentaux, ces formes cliniques n'affectent pas plus les femmes enceintes que les autres sujets, alors que dans les pays en développement, la morbidité et la mortalité sont accrues dans ce groupe, l'amélioration de l'état nutritionnel de ces femmes enceintes corrigeant cette différence.

Alors qu'il y a quelques années la très grande majorité de la population adulte française était immune et donc protégée de l'hépatite A, l'épidémiologie s'est rapidement modifiée. Aussi, chez les jeunes recrues du service national, la séroprévalence est passée de 50% en 1976 à 21% en 1990 et la situation française se rapproche progressivement et rapidement de celle des pays nordiques (figure 1).

Il est ressorti d'une enquête récente réalisée à Limoges chez les femmes enceintes, que la séroprévalence anti-HAV était de 35% si elles étaient originaires de France ou d'Europe, de 86% si elles venaient du sud-est asiatique et de près de 100% si elles étaient africaines. Le fait que le contact avec le virus se retrouve de plus en plus retardé et que la population est de moins en moins immune, fait que lorsque la rencontre avec le virus se produit, elle a de plus en plus de chances d'être symptomatique et grave, ce qui n'était pas le cas quand le virus circulait intensément et que l'hépatite le plus souvent inapparente, survenait dès l'enfance.

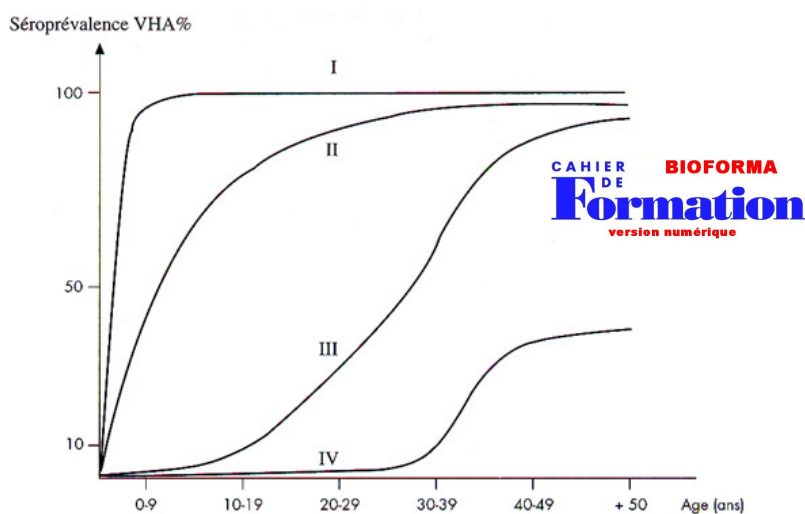


Figure 1 Evolution de la séroprévalence des anticorps contre le virus de l'hépatite A en fonction de l'âge dans différentes zones géographiques. On rencontre le profil I en Afrique, Asie... II sur le pourtour méditerranéen. III en Europe, aux Etats Unis. IV dans les pays nordiques.

De ce fait, les femmes enceintes tout comme les autres adultes français courent un risque élevé de contracter une hépatite A quand ils voyagent dans les pays à faible niveau socio-économique ou seulement par ingestion de certains aliments suspects.

On considère que le mode majeur de transmission de l'hépatite A se fait par voie digestive sur le mode oral, une transmission par le sang et ses dérivés est possible, jusqu'à ce jour il n'était pas décrit de transmission verticale (1, 3, 4, 5, 7).

Toutefois en 1993 (6), à l'occasion de la découverte de 10 cas d'hépatite A survenus dans une unité de soins intensifs de néonatalogie, on a constaté que 4 enfants avaient été infectés. Dans un cas, la mère a présenté une hépatite A 10 jours après l'accouchement d'un enfant né prématuré et l'enquête épidémiologique suggère très fortement que l'enfant a été infecté par sa mère soit avant (durant la virémie maternelle), soit au cours de la naissance. Outre ce cas unique, ce travail souligne le risque d'épidémie de ces services à partir des mères, des visiteurs ou du personnel soignant.

## MESURES CONCRETES

A partir d'un cas unique de transmission verticale vraisemblable du virus de l'hépatite A, on ne peut proposer des mesures draconiennes pour les femmes enceintes.

On peut toutefois leur recommander d'éviter les consommations d'aliments à risque d'hépatite A et surtout d'éviter les voyages en zones endémiques.

Rappelons que l'hépatite A peut être prévenue transitoirement avec des gammaglobulines actuellement standards qui devraient être spécifiques dans l'avenir, le titre d'anticorps anti-HAV dans les gammaglobulines polyvalentes diminuant ces dernières années. Une prophylaxie durable peut être obtenue à l'aide d'un vaccin à virus tué (HAVRIX) administré par trois injections (deux distantes de 15 à 30 jours et une 6 mois après) qui risquent prochainement d'être ramenées à deux.

## CONCLUSION

L'hépatite A ne constitue pas un risque spécifique pour la femme enceinte, mais comme on risque du fait de l'évolution rapide de l'épidémiologie de voir de plus en plus de cas chez les adultes, cette pathologie devrait logiquement survenir plus fréquemment notamment chez les femmes enceintes ; si elles ont séjourné dans des pays endémiques, le diagnostic différentiel se pose alors avec acuité entre hépatite A et hépatite E.



## BIBLIOGRAPHIE

---

- 1- ALAGILLE D. Les hépatites virales A et B au cours de la grossesse. Rev. Médecine 1983, 14, 645
- 2- DENIS F, RANGER S. Diagnostic virologique des infections par le virus de l'hépatite A. L'Eurobiologiste 1992, 26, 119-129
- 3- DOFFOEL M., PRATTE S. Actualités sur l'hépatite A. EMC 1993, 64-3, 107-110
- 4- SILVA M., SCHIFFE R. Viral hepatitis in pregnancy. Eur. J. Gastroenterol. Hepatol 1991, 3, 873-876
- 5- SNYDMAN D.R. Hepatitis in pregnancy. N. Engl. J. Med. 1985, 313, 1398-1401
- 6- WATSON J.C., FLEMING D.W., BORELLA A.J., OLCOTT E.S., CONRAD R.E., BARON R.C. Vertical transmission of hepatitis A resulting in an outbreak in a neonatal intensive care unit. J. Inf. Diseases 1993, 167, 567-571
- 7- ZHANG R.L., ZENG J.S., SHANG H.Z. Survey of 34 pregnant women with hepatitis A and their neonates. Clin. Med. J. 1990, 103, 552-555



## VIRUS DE L'HEPATITE E ET FEMMES ENCEINTES

F. DENIS

*Si on soupçonne depuis longtemps (1980) l'existence d'hépatites non A-non B à transmission entérique, ce n'est que depuis 1990 que le principal agent de ces hépatites est bien identifié. Il s'agit du virus de l'hépatite E.*

### RAPPEL SUR LE VIRUS ET LE DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE

Le virus de l'hépatite E est assez proche de la famille des Calicivirus, c'est un virus à ARN sphérique non enveloppé, de 32 à 34 nm de diamètre.

Le virus est éliminé dans les selles et peut être transmis soit par contact direct, soit par ingestion d'aliments souillés. Classiquement les risques de transmission se situent lors de séjours en zone endémique : Asie, Afrique, Amérique du sud, mais des études récentes montrent que le virus circule en Europe.

Le diagnostic virologique ne saurait reposer en routine sur la culture du virus (seulement possible sur les primates) ou la visualisation du virus peu performante en microscopie électronique.

De même, la recherche d'antigène HEV dans les selles ou même du génome par amplification génique (PCR) est décevante.

De ce fait, la seule approche permettant un diagnostic virologique spécifique repose sur le sérodiagnostic.

Après le recours à des techniques compliquées (immunofluorescence sur coupe de foie de primate infecté), on dispose depuis peu de temps (commercialisation prévue en 1994), de kits de diagnostic recherchant les anticorps par technique immuno-enzymatique (ELISA) en utilisant comme source d'antigène des protéines HEV recombinantes.

On peut de même différencier par ELISA les IgM et les IgG anti-HEV. Les IgM sont constantes à la phase aiguë mais disparaissent en une dizaine de semaines, les IgG d'apparition un peu plus tardive persisteraient quelques années. Il existe des tests de confirmation avec des peptides synthétiques ou des protéines recombinantes par ELISA ou immunoblots.

### RAPPEL SUR L'EVOLUTION DE L'INFECTION VIRALE

Après une incubation de l'ordre de 40 jours, se développe un tableau clinique assez proche de celui observé dans l'hépatite A, mais les formes anictériques sont fréquentes (60%). Après une phase préclinique marquée par de l'asthénie, des troubles digestifs, de la fièvre, survient un ictère d'intensité variable s'accompagnant d'une hypertransaminasémie. L'ictère disparaît en une semaine, et les transaminases se normalisent en une quarantaine de jours.

#### Séro-épidémiologie

En zone d'endémie, des taux de séroprévalence de l'ordre de 10% ont été rapportés.

Le taux d'attaque maximal porte sur la tranche des 15-40 ans, il est un peu plus élevé dans la population masculine que féminine. Une enquête sérologique pratiquée sur des donneurs de sang européens avait fait état d'une prévalence de 1 à 2%.

Nous-mêmes, étudiant des sérums de femmes enceintes d'origine étrangère vivant en France, avons trouvé des séroprévalences variant avec l'origine géographique, allant de 6% (Asie du sud-est) à 7,7% (Turquie), voire même 14,4% (Afrique du Nord).

Sans que l'on ait pu démontrer s'il s'agissait d'hépatite E contractée dans le pays d'origine ou en France dans des populations vivant dans des conditions précaires.

#### Aspects cliniques de l'hépatite E pour les femmes enceintes

Si chez l'enfant ou l'adulte l'évolution est en règle favorable, l'essentiel de la gravité est lié à la mortalité observée chez les femmes enceintes.

Cette évolution fatale augmente au cours de la grossesse, elle est très élevée au 3ème trimestre (Tableau I).

Selon les études, la mortalité est chez les femmes enceintes de 6 à 12 fois plus élevée que celle observée chez l'homme ou la femme non gravide.

Chez la femme enceinte, la mortalité est de 10 à 20%, voire même 40%.

La vie du fœtus n'est affectée que dans les formes graves.

Le mécanisme précis responsable de cette mortalité en cours de grossesse n'est pas connu et le risque de transmission verticale du virus E n'est pas bien étudié.

## MESURES CONCRETES

---

Les risques majeurs sont liés à une contamination fécale, surtout alimentaire, survenant généralement dans les pays en développement.

Les principales endémies parfois de grande ampleur (10.000 à 30.000 cas) ont été rapportées en Inde, au Népal, au Pakistan et Asie du sud-est ou centrale, en Afrique (Algérie, Côte d'Ivoire, Tchad, ...), en Amérique (Mexique, ...). les enquêtes récentes prouvent la circulation du virus en Europe surtout au niveau du pourtour méditerranéen.

Ces zones sont donc à risque d'hépatite E.

Il est donc raisonnable de proscrire aux femmes enceintes tout voyage en zone d'endémie et d'évoquer une hépatite E chez toute femme enceinte revenant d'une telle zone (voyage, immigration, retour de vacances au pays ...), et d'une manière générale chez toute femme enceinte, après avoir éliminé les autres causes d'ictères gravidiques et les infections par les virus des hépatites les plus courantes (HAV, HBV...).

Il n'existe pas encore de vaccin anti-HEV (des essais sur primates sont actuellement en cours), aussi à ce jour la seule prévention repose sur la surveillance de l'hygiène alimentaire et sur le fait de déconseiller aux femmes enceintes un voyage en zone de risque d'hépatite E.

La mise à disposition des biologistes de tests de diagnostic spécifique permettra sûrement de constater que l'hépatite E a été jusqu'à ce jour sous-estimée en France, notamment chez les femmes enceintes chez lesquelles ce virus peut entraîner des formes gravissimes voire mortelles.

## BIBLIOGRAPHIE

---

- 1- BALAYAN M.S. Hepatitis E virus infection in Europe : regional situation regarding laboratory diagnosis and epidemiology. Clin. Diagn. Virol, 1993, 1, 1-9
- 2- BRADLEY D.W. Hepatitis E Epidemiology, aetiology and molecular biology. Reviews Med. Virol. 1992, 2, 19-28
- 3- DENIS F., RANGER S. Diagnostic virologique des infections par le virus de l'hépatite E (VHE). L'Eurobiologiste 1992, 26, 287-294
- 4- MOLINE C. l'hépatite non A-non B épidémique. Concours Méd. 1990, 773-778
- 5- RANGER-ROGEZ S., DENIS F, UDIN L. Seroprevalence of hepatitis E among pregnant women foreign residents in France. Lancet 1993, 342, 998-999.
- 6- REYES G.R., PURDY M.A., KIM L.P., LUCK K.C., YOUNG L.M., FRY KE., BRADLEY D.W. Isolation of a cDNA from the virus responsible for enterically transmitted non-A, non B hepatitis. Science 1990, 247, 1335-1339

## RETROVIRUS ET FEMMES ENCEINTES

F. DENIS

Les rétrovirus humains sont classés en lentivirus (virus du SIDA), oncovirus (virus HTLV) et spumavirus.

On ne possède d'éléments sur la transmission verticale que pour les deux premiers.

Les travaux réalisés sur les virus HTLV (découverts avant les virus HIV) avaient révélé la grande fréquence de la transmission par l'allaitement maternel et une faible transmission in utero ou perinatale. Les premières études portant sur les virus HIV avaient souligné à l'inverse, l'importance de la transmission transplacentaire ou perinatale, mais sous-estimé voire nié la transmission par l'allaitement, qui est certes faible, mais indiscutable.

Les données actuelles permettent de mieux cerner les modalités et la chronologie de la transmission, préalables indispensables à une prévention. En effet, lorsque les transmissions se produisent précocement in utero, on peut difficilement prévenir cette transmission.

Lorsque la contamination se situe en fin de grossesse ou lors de l'accouchement, on peut envisager de protéger l'enfant par diminution de la charge virale maternelle, en limitant le contact mère-enfant ou à l'aide de gammaglobulines spécifiques.

Tout médecin rêve de pouvoir appliquer aux nouveau-nés de mères séropositives HIV une sérovaccination aussi efficace que celle utilisée contre l'hépatite B, mais nous n'en sommes malheureusement pas encore là.

Par contre, la reconnaissance des mères HIV+ et HTLV+ par dépistage sérologique en cours de grossesse permet en proscrivant l'allaitement maternel de diminuer le risque de transmission verticale. Ce dépistage proposé en France pour le HIV ne l'est que rarement pour l'HTLV même pour les femmes enceintes à risque.

Il importe que les biologistes, tout comme les gynécologues-obstétriciens et les pédiatres connaissent ces virus, les modalités de transmission, les techniques virologiques permettant de reconnaître les risques de transmission et la contamination de l'enfant, ainsi que les éventuelles mesures préventives. Ces objectifs nous ont conduits à écrire une synthèse succincte des connaissances actuelles sur la transmission verticale des rétrovirus humains.



*Au sein de la famille des rétrovirus, on distingue trois sous-familles les lentivirus, les oncornavirus et les spumavirus. Une transmission verticale a été démontrée dans l'espèce humaine pour les lentivirus (virus HIV) et les oncornavirus (virus HTLV). Les transmissions peuvent théoriquement se produire à différents moments : in utero, en début ou en fin de grossesse, par passage transplacentaire (simple modification de la perméabilité ou véritable infection placentaire), en période périnatale (par voie ascendante par le canal cervical ou lors du passage dans la filière génitale), ou après l'accouchement lors de l'allaitement ou du fait du contact étroit entre la mère et l'enfant.*

*Il est logique d'analyser les mécanismes et la part respective des différents modes de transmission avant d'envisager le suivi virologique et la prévention.*

## TRANSMISSION

Pour toutes les femmes séropositives HIV, le virus est présent dans le sang (100% de cultures positives quel que soit le stade clinique), une contamination du fœtus peut être obtenue à partir de particules virales libres, ou de lymphocytes maternels infectés.

Il apparaît que le placenta ne joue pas seulement un rôle passif puisqu'il possède des récepteurs CD4 (au niveau des syncytiotrophoblastes), et qu'il est porteur de récepteurs des fragments Fc des immunoglobulines, ces récepteurs fixant les anticorps anti-HIV pourraient permettre l'ancrage du virus, cette étape de fixation (sur CD4 ou récepteur Fc) précédant l'entrée du HIV dans les cellules placentaires. La date précise du passage transplacentaire n'est pas clairement établie, si des cas cliniques sont en faveur d'un passage précoce (1er-2ème trimestre), d'autres arguments plaident en faveur d'un passage tardif en fin de grossesse ou en période périnatale, il en sera reparlé.

La contamination perinatale liée à la présence de virus au niveau de la glaire cervicale maternelle est possible, mais elle interviendrait rarement, elle pourrait se faire par l'intermédiaire d'excoriations cutanées chez le nouveau-né ou d'un simple contact cutané (les récepteurs CD4 sont présents sur les cellules de Langherans de la peau) ou muqueux. La transmission par l'allaitement est prouvée (du fait du lait contaminé, ou de crevasses ou d'abcès du sein) à la lumière de cas cliniques isolés et de données épidémiologiques récentes. Des travaux appliquant la PCR au lait maternel, ont montré que le virus était plus souvent détecté en période néonatale (32 à 70%), que postnatale (8 à 33%).

Il est difficile actuellement de déterminer l'importance relative de chaque mode de transmission (la place de l'allaitement serait faible), mais on estime actuellement (Tableau I) que la contamination du nouveau-né se ferait à partir d'une mère HIV-1 + dans 13 à 20% des cas en Europe et dans 30 à 40% des cas en Afrique. La transmission verticale du HIV-2, contrairement à celle du HIV-1 est très faible.

**Tableau I : Taux de transmission verticale**

Transmissions	HIV-1 Europe - Afrique
In utero	13-20 % 30-40 %
perinatale	
Allaitement	2-5%
	HIV-2
	Transmission faible 0-3 %

Le moment de transmission du virus du SIDA (HIV-1) a pu être estimé grâce à une étude due à Rouzioux et coll. (6) menée chez une centaine d'enfants nés de mères séropositives, qui a permis d'élaborer un modèle mathématique.

D'après ce dernier:

- 35% des enfants auraient été contaminés "in utero" essentiellement à la fin de la grossesse (deux derniers mois : 33%), et pour un petit nombre, plus tôt (2%).

- les 65% restant le seraient au moment de l'accouchement.

En fait, le pourcentage de transmission in utero croît lorsque l'état clinique de la mère est à un stade évolutif avancé.

Cette transmission, le plus souvent tardive, laisse espérer une intervention possible pour diminuer celle-ci.

## ■ AMPLEUR DU PROBLEME

On ne peut nier l'ampleur du problème posé par cette transmission verticale des rétrovirus. Cette transmission a initialement été sous-estimée pour le HIV, elle concernera des millions d'enfants d'ici l'an 2000.

On estime que pour le seul continent africain, il y aurait 2,5 millions de femmes infectées, les prévalences dépassant dans certaines zones 10% voire 20% chez les femmes enceintes. Des taux comparables ont été signalés à Haïti.

En région parisienne, la séroprévalence se situe entre 2,5 et 9,5 pour mille, à Limoges elle est de 0,14% (0,11 % chez les Françaises et 0,29% chez les femmes enceintes d'origine étrangère). Compte tenu du fait qu'il y a en France 800.000 accouchements par an, on peut estimer qu'il y a 2.000 à 3.500 grossesses de femmes HIV+ chaque année.

## ■ CONSEQUENCES DE LA TRANSMISSION POUR L'ENFANT ET LA MERE

Si les conséquences de la transmission verticale sont très lentes à apparaître pour l'HTLV, les leucémies T et les neuropathies survenant des décennies après la contamination et ne concernant qu'une très petite fraction des contaminés, il en est tout autrement pour le HIV-1, puisque (Tableau II) parmi les enfants contaminés entre un cinquième et un tiers présentent une forme rapide et sévère révélée avant l'âge de 2 ans et que les autres développent une forme plus lente, progressive et proche de la maladie de l'adulte.

**Tableau II : Evolution clinique des enfants infectés sur le mode vertical par le HIV**

Forme	Fréquence	Survie à 4 ans
<b>Sévère, rapide</b>	<b>20 %</b>	<b>10 %</b>
<b>Progressive</b>	<b>80 %</b>	<b>90 %</b>

Dans la forme grave, les signes cliniques sont précoces et les signes neurologiques sont présents dans les deux tiers des cas.

Dans la forme usuelle, les symptômes cliniques sont en général non spécifiques au cours de six premiers mois (adénopathies, splénomégalie et/ou hépatomégalie).

Deux complications viscérales apparaissent avec une grande fréquence :

- pneumopathie interstitielle lymphoïde,
- atteinte cardiaque.

Par ailleurs, les infections bactériennes sont plus fréquentes que chez l'adulte.

Pour la mère (1) la grossesse ne semble pas agir sur l'évolution de la maladie, lorsque la mère est asymptomatique, par contre des infections opportunistes graves voire mortelles ont été décrites durant les derniers mois de la grossesse ou dans les suites de couches.

Par ailleurs, d'autres complications maternelles risquent de modifier le mode d'accouchement ou de retentir sur l'enfant, complications infectieuses : vaginites, herpès génital, infections à papillomavirus ou hématologique avec des thrombopénies graves.

## ■ RECONNAISSANCE VIROLOGIQUE DE LA CONTAMINATION DU NOUVEAU-NÉ

Nous ne développerons pas le diagnostic virologique pour la mère, le cas revenant au cas général, mais nous développerons celui de l'enfant moins souvent traité.

On peut utiliser pour reconnaître la contamination de l'enfant deux approches : l'une directe visant à rechercher les virus ou leurs constituants, l'autre indirecte recherchant des cellules productives d'anticorps ou les anticorps eux-mêmes dans le sang des enfants (Tableau III).



Tableau III : Techniques de diagnostic virologique de contamination des nouveau-nés par les virus HIV

	HIV
<b>Diagnostic direct</b>	
- Culture	++
- Recherche génome • Hybridation	+
• PCR	+++
- Antigénémie	+p24
<b>Diagnostic indirect</b>	
- Cellules productrices d'anticorps	
• in vitro	+
• in vivo	+
- Surveillance des anticorps sériques	
• ELISA	+++
• Western Blot	+++
• IgM	±

CAHIER DE **BIOFORMA**  
**Formation**  
version numérique

### I.1. Diagnostic direct

Pour le HIV, la recherche directe (Tableau IV) repose sur :

- **la culture virale** : si la spécificité de cette technique est de 100%, sensibilité durant les 15 premiers jours de la vie est faible, elle atteint toutefois 48% dans l'étude française (5) ; par la suite, dès le 2ème mois, la sensibilité est de plus de 95%.

- **l'amplification génique** (Polymerase Chain Reaction ou PCR) aurait une sensibilité voisine de celle de la culture, croissante avec l'âge, atteignant 95% dès le deuxième mois.

Tableau IV : Performances des techniques de diagnostic virologique direct chez les enfants contaminés

Marqueurs viraux	Naissance	6-8 ans
Culture +	0-50 %*	+95 %
ADN + (PCR)	15-55 %	+ 95 %
Ag p24	15 %**	30-50 %

\* Etude française 48 %

\*\*Accru avec test de dissociation

A noter que l'on peut s'étonner des faibles performances de la culture et de la PCR à la naissance chez les enfants contaminés. On ne sait pas bien actuellement s'il s'agit de vrais négatifs (l'enfant étant contaminé seulement en période péri ou postnatale), ou de faux négatifs du fait d'un faible taux viral, de virus défectifs ou latents, ou de virus localisés dans ces cellules cibles non circulantes.

- **La recherche de l'antigénémie p24** est peu performante à la naissance, mais considérée comme très spécifique, la positivité est accrue grâce aux procédés de dissociation des immunocomplexes. Dès le 2ème mois, l'antigénémie serait retrouvée chez 20 à 50% des nouveau-nés infectés.

Il faut souligner que, vu l'importance du diagnostic porté, l'annonce définitive d'une contamination de l'enfant ne peut se faire qu'après contrôle d'une positivité portant sur deux prélèvements différents (5).

### II.1. Diagnostic indirect

A la détection d'anticorps spécifiques circulants est venue s'ajouter la recherche de production d'anticorps in vitro ou in vivo.

- **Tests de production d'anticorps in vivo ou in vitro sur lymphocytes de l'enfant.**

Le principe repose sur la recherche de lymphocytes B circulants, producteurs d'anticorps anti-HIV.

Deux approches sont possibles:

- l'une vise à mettre en culture les lymphocytes B du sang périphérique des enfants durant 7 jours, et à rechercher la production d'anticorps : c'est le test IVAP (In Vitro Antibody Production),

- l'autre consiste à mettre en contact les cellules B du patient avec une membrane recouverte d'antigènes HIV, puis à détecter les anticorps portés par les lymphocytes ; cette technique est interprétable en 1 à 2 jours.

Ces approches en cours d'évaluation peuvent donner de fausses réactions positives dues notamment aux anticorps maternels transmis passivement et fixés aux lymphocytes B du nourrisson.

Dès le 3ème mois de vie, la sensibilité serait de l'ordre de 95%.

#### **- Surveillance des anticorps circulants**

- L'analyse séquentielle des sérums de l'enfant par ELISA et Western Blot est simple et facile à réaliser, mais elle ne donne un diagnostic de certitude que tardivement.

Si la perte des anticorps maternels transmis passivement lors de la naissance peut être observée dès le 9ème mois chez certains enfants, pour d'autres la persistance peut excéder 12 mois. Tous les enfants séronégatifs à l'âge de 16 mois sont considérés comme non infectés car ils ont une culture et une PCR négatives.

A noter que dans certains cas, une remontée des anticorps peut suivre une négativation préalable dans anticorps "passifs" par consommation de ces anticorps par des antigènes viraux circulants. Dans la majorité des cas, on note seulement une diminution des anticorps, suivie d'une remontée observable facilement en comparant les Western Blots séquentiels et en analysant l'intensité des bandes.

#### **- La recherche d'anticorps dirigés contre certaines classes d'immunoglobulines**

La production d'IgM, évaluée par des techniques d'immunocapture, montre une faible sensibilité (de l'ordre de 30% dès les premières semaines de la vie), et un caractère très transitoire.

Comme les IgM, les IgA maternelles ne passent pas la barrière placentaire, la présence d'anticorps HIV dans cette classe d'immunoglobulines dans le sang de l'enfant signe donc une synthèse d'anticorps propres à l'enfant. Ces anticorps peuvent être recherchés par technique ELISA, mais l'interférence avec des IgG maternelles rend nécessaire un prétraitement du sérum éliminant les IgG anti-HIV.

A la naissance, la sensibilité serait de 10 à 20% pour atteindre, selon les auteurs, entre 30 et 95% à l'âge de 3 mois, et entre 50 et 100% à l'âge de 6 mois.

La spécificité serait de l'ordre de 99%, notamment en utilisant des Western Blots pour la confirmation.

En fonction des moyens dont on dispose et de la rapidité que l'on souhaite pour porter le diagnostic de contamination de l'enfant, on peut utiliser l'une ou l'autre approche (diagnostic direct ou indirect) et l'une ou l'autre technique (Tableau V), voire des combinaisons de tests. En fait, à l'âge de 3 à 6 mois, la grande majorité des enfants infectés peut être détectée par l'une ou l'autre des méthodes.

**Tableau V : Sensibilité des tests virologiques indirects chez l'enfant né de mère HIV+ d'après C. Rouzioux**

Technique	0-1 mois	1-5 mois	3-6 mois	+ 6 mois
IgA anti-HIV	- 10 %	20-50 %	50-80 %	70-90 %
IVAP	NS	NS	+95 %	+95 %
ELISPOT	NS	NS	+95 %	+95 %

*NS résultats non significatifs*

### **FACTEURS MATERNELS PREDICTIFS D'UNE TRANSMISSION**

Une approche nouvelle consiste à tenter de définir les facteurs maternels prédictifs d'une transmission (3, 4, 8)

- HIV

Il est envisageable de cerner des femmes HIV à haute fréquence de transmission (HFT) en analysant différents paramètres maternels ou viraux.

#### **- Maternels**

- Stade clinique : les femmes qui sont au stade avancé de la maladie (stade IV du CDC) et/ou présentant un taux faible de CD4 (inférieur à 300 ou 400/mm<sup>3</sup>), celles qui sont antigénémiques transmettraient significativement plus souvent le virus à leurs enfants comme l'ont montré des rapports de consensus (4), des études multicentrique ou celle de Fenyo et Rubinstein (3) (Tableau VI).

De même, la séroconversion pendant la grossesse constitue un facteur de risque en raison de la forte virémie qui l'accompagne.

**Tableau VI : Facteurs maternels prédictifs d'une transmission verticale**

CD4 < 300/mm3	45 % vs 5 %
Ag p24	70 % vs 10 %
Ac. antiboucle V3	27 % vs 75 %
Ac. neutralisants	41 % vs 57 %
Phénotype viral Rapide/Lent	41 % vs 8 %

*Selon Fenyo et Rubinstein Amsterdam 1992*

Enfin, certaines circonstances liées à l'accouchement telles que prématurité, chorioamniotite, accouchement par voie basse, travail prolongé et/ou avec complications, sont identifiées comme étant des facteurs de risque.

- Immunité antivirale

Certaines études ont affirmé que les mères HIV-1 possédant des anticorps dirigés contre la boucle V3 de la gp 120 transmettraient moins le virus que celles dont le sérum ne réagissait pas contre les peptides synthétiques représentatifs de cette séquence (Tableau VI), mais en fait, ce point est sujet à des controverses.

De même, un titre élevé d'anticorps neutralisants ou d'anticorps anti-gp41 ont été considérés par certains comme protégeant de la transmission verticale, mais là encore, cette opinion ne fait pas l'unanimité.

- Viraux

La charge virale maternelle jouerait un rôle important dans la contamination et expliquerait le risque élevé de contamination durant la primo-infection et au stade de SIDA. Le lien entre antigénémie maternelle (traduisant une réplication virale importante) et transmission verticale vont dans le même sens.

L'analyse de facteurs viraux non plus quantitatifs mais qualitatifs est venue compliquer la compréhension de la transmission mère-enfant.

On sait qu'il est possible de classer les virus HIV en fonction de leur capacité de réplication. In vitro, on distingue les virus à réplication rapide (R), intermédiaire (S/R), ou lents (Slow ou S), et classiquement, on considère qu'aux deux extrémités de la maladie, primo-infection et SIDA, dominent les souches R, et au stade asymptomatique, des S voire des S/R.

La transmission verticale serait plus fréquente lorsque la mère héberge des virus "rapide".

Il est possible que le plus fort taux de transmission observé lorsque les mères sont un stade clinique évolué, avec un faible taux de CD4 et une antigénémie sont corrélés avec la présence abondante de souches R dans le sang maternel.

Un travail récent dû à Wolinsky (9) affirmait que les isolats présents chez l'enfant étaient génétiquement plus proches de ceux de sa mère que le sont les isolats de deux individus sans lien de parenté et révélait que le nouveau-né ne présente qu'une infime partie des variants de sa mère. Par ailleurs, le génotype de l'enfant correspondait à un variant minoritaire de la mère... Ces affirmations ont été battues en brèche rapidement, certains auteurs trouvant que les souches des enfants ne sont pas plus différentes de celles de leur mère que celles retrouvées au sein d'un foyer ayant une source de contamination commune.

Pour Wolinsky (9), l'un des sites de glycosylation de la boucle V3 de l'enfant serait systématiquement absent. Du fait de la faible variabilité observée dans la région V3 et son rôle crucial dans la réponse immune, l'absence du site de glycosylation a fait supposer l'existence d'une pression de sélection positive au niveau de la boucle V3. Certains variants présents chez la mère échapperaient à l'immuno-surveillance maternelle et pourraient ainsi jouer un rôle majeur dans la transmission.

Mais une seule étude ne permet pas de fonder une théorie d'autant plus que l'observation portait sur un petit nombre de patients et que très tôt des observations contradictoires ont été rapportées...

Par l'étude de la boucle V3 chez la mère et l'enfant de manière séquentielle, Mulder-Kampinga (7) a montré que la séquence V3 de l'enfant à la naissance était plus proche de celle de la mère durant les premier et second trimestres de la grossesse, que ce soit observées à la délivrance. Par ailleurs, l'homogénéité de séquence V3 est grande jusqu'à la 6ème semaine, l'hétérogénéité croît dès la 9ème semaine de vie.

Quoi qu'il en soit, il existe d'authentiques facteurs maternels (cliniques, immunitaires ou viraux) qui semblent jouer un rôle majeur dans la transmission.

Dès que les facteurs maternels permettant de définir celles qui sont à haut risque de transmission seront cernés, des mesures spécifiques pourront être prises pour intervenir.

## ■ PREVENTION

---

Face à ce problème, on peut envisager de réduire le risque de transmission.

Pour le HIV, on déconseille l'allaitement maternel, on recommande l'éviction du don dans les lactariums des femmes HIV+, et un traitement par la chaleur des laits de lactarium.

Pour tenter de prévenir la transmission in utero et perinatale du H.IV, on recommande la contraception pour les femmes connues comme étant séropositives. Pour toutes les femmes enceintes, un dépistage sérologique HIV est proposé (dans la région parisienne, 46% des consultant·es ont appris leur séropositivité lors d'une grossesse). Si le conjoint ou le partenaire de la mère séropositive est séronégatif (30% des cas), l'usage de préservatifs évitera la contamination de ce dernier et on pourra ainsi éviter que les deux parents soient séropositifs.

Si le dépistage est précoce, une interruption de grossesse peut être pratiquée chez la femme après avoir exposé à celle-ci les conséquences de cette séropositivité et les risques de transmission. Si le dépistage est tardif et en cas de refus d'interruption de grossesse, on se contentait jusqu'à maintenant, de surveiller la femme puis l'enfant en mettant éventuellement celui-ci sous traitement.

Des travaux récents tendent à montrer que la césarienne pouvait diminuer la contamination verticale. Mais ce sont surtout les résultats d'une étude randomisée (ACTG 076) dont les résultats ont été publiés en 1994, qui ont fait évoluer la situation, ils viennent de montrer que la zidovudine (AZT) administrée à la mère à partir du 2ème trimestre de la grossesse, avec dose de charge durant le travail, puis à l'enfant durant 6 premières semaines de vie permettait de diviser par 3 le taux de contamination du nouveau-né (8,3% contre 25,5%). Mais cette étude ne porte que sur des femmes enceintes ayant plus de 200 CD4/mm3, et il ne faut pas perdre de vue le fait que le risque de transmission reste, même avec ce traitement, très élevé chez les femmes qui ont un statut immunologique plus dégradé.

Enfin, la connaissance de la séropositivité maternelle permet une meilleure prise en charge médicale de l'enfant, une recherche plus précoce de sa contamination et la prise de mesures adaptées (pour les vaccinations et le traitement notamment).

---

## BIBLIOGRAPHIE

---

*La bibliographie sur le sujet étant considérable, nous nous sommes limités à quelques articles de synthèses ou nommément cités dans le texte.*

- 1- HENRION R. Dépistage HIV en début de grossesse. Est-il utile, est-il nécessaire ?  
Rev. Prat. (Paris), 1993, 43, 2227-2229.
- 2- HO PYUN K., OCHS H.D., DUFFORD M.T.W., WEDGWOOD R.J. Perinatal infection with human immunodeficiency virus. New Engl. J. Med. 1987, 317, 611-614.
- 3- International Conference on A.IDS - Amsterdam 1992, vol. des abstracts
- 4- Report of a Consensus Workshop. Maternal factors involved in mother to child transmission of HIV-1  
J. of AIDS 1992, 5, 1019-1029.
- 5- ROUZIOUX C. Le diagnostic virologique de l'infection par VIH chez l'enfant. Path. Biol. 1992, 40, 720-723.
- 6- ROUZIOUX C., COSTAGLIOLA D. SIDA : quand s'effectue la transmission de la mère à l'enfant.  
La Recherche, 1993, 24, 1016-1017.
- 7- MULDER-KAMPINGA G.A., KUIKEN C., DEKKER J., SCHERPBIER H.J., BOER K., GOUDSMIT J.  
Genomic human immunodeficiency virus type 1 RNA variation in mother and child following intra-uterine virus transmission.  
J. Gen. Virol 1993, 74, 1747-1756.
- 8- NEWELL M.L., PECKHAM C. Risk factors for vertical transmission of HIV-1 and early markers of HIV-1 infection in children, AIDS, 1993, 7 (suppl. 1), S91 - S97
- 9- WOLINSKY S.M., WIKE C.M., KORBER B.T.M., HUTTO C., PARKS W.P., ROSENBLUM L.I., KUNSTMAN K.J., FURTADO M.R., MUNOZ J.L. Selective transmission of human immunodeficiency virus type 1 variants from mothers to infants. Science 1992, 255, 1134-1137.

*Les virus HTLV (Human T-cell Leukemia Virus) sont au nombre de 2, le HTLV-I découvert en 1980 fut le premier rétrovirus humain identifié, l'HTLV-II a été découvert en 1983.*

*Le virus HTLV-I est endémique au Japon et en Papouasie Nouvelle Guinée, en Afrique sub-saharienne et dans les Caraïbes. Le virus HTLV-II est plus localisé aux populations indiennes (notamment en Amazonie) et dans de rares foyers africains.*

*HTLV-I et HTLV-II sont également retrouvés dans les groupes à risque, essentiellement des drogués un peu partout dans le monde.*

*Si des pathologies ont été associées à l'HTLV-I (leucémie T ou ATL, neuromyélopathies (TSP/HAM)), à ce jour on n'a associé aucune symptomatologie particulière de manière formelle à l'HTLV-II hors peut-être quelques cas de neuropathies.*

### **RAPPEL SUR LES VIRUS ET SUR LE DIAGNOSTIC DES INFECTIONS A HTLV**

Ce sont des rétrovirus, virus à ARN enveloppés possédant une transcriptase reverse, classés dans les oncovirinae.

Ces virus possèdent des gènes gag-pol-env et des protéines régulatrices. Les deux sérotypes possèdent des taux d'homologie variables selon les protéines.

La culture des virus n'est pas envisageable en routine, la recherche d'antigènes circulants non plus. La recherche du génome par PCR, se développe pour le diagnostic et pour la différenciation entre HTLV-I et II.

En routine, le diagnostic est surtout indirect, reposant sur la recherche des anticorps circulant anti-HTLV I et II par technique immuno-enzymatique (ELISA), agglutination voire immunofluorescence. Tout test de dépistage doit être suivi d'un test de confirmation par Western blot enrichi de protéines recombinantes rgp21, gp46, gp52, la réactivité vis-à-vis de certaines protéines recombinantes ou natives permet un diagnostic présomptif de type, de même que certaines peptides synthétiques spécifiques.

Chez les enfants nés de mères HTLV+, la transmission passive d'anticorps maternels (IgG) est la règle, ces anticorps disparaissent en général dans les 6 à 9 mois qui suivent la naissance s'il n'y a pas eu contamination.

La preuve d'une contamination de l'enfant peut être apportée par recherche du virus dans les lymphocytes par amplification génique et/ou par culture. Par une persistance d'anticorps après l'âge de un an, la recherche d'une synthèse d'IgM et/ou d'IgA anti-HTLV ne semble pas informative.

### **FREQUENCE DE L'INFECTION CHEZ LES MERES**

La séroprévalence HTLV chez les femmes enceintes atteint au Japon 3,7% à Nagasaki et 20,8% à Okinawa.

En Afrique sub-saharienne des taux de 0,2 à 2% ont été rapportés et en Martinique de 2,4%.

En Europe, les prévalences trouvées chez les femmes enceintes sont très faibles, comprises entre 0 et 0,6% en France, 0,002 et 0,72% en Grande-Bretagne.

L'origine géographique ne permet pas de préjuger de la séropositivité. Ainsi, dans l'enquête réalisée en transfusion, 66% des femmes séropositives étaient originaires de France.

### **LES MODALITES DE TRANSMISSION**

La transmission virale est liée à des cellules infectées et non à des virus libres.

La transmission horizontale peut s'effectuer :

- par voie sanguine uniquement lorsqu'il y a présence de cellules infectées (transfusion, drogues injectables), les produits dérivés du sang (fractions coagulantes, plasma ...) ne sont pas infectieux,

- par voie sexuelle, les virus HTLV-I et HTLV-II sont présents dans le sperme et les sécrétions génitales féminines.

Cette transmission prouvée depuis longtemps pour l'HTLV-I avec souvent une efficacité plus grande dans le sens homme-femme, l'a été plus récemment pour l'HTLV-II.

La transmission verticale de la mère à l'enfant de l'HTLV-I a surtout été analysée à partir de données japonaises.

Le taux de transmission verticale est selon une revue de la littérature de 15 à 25%. Il est d'autant plus élevé que la mère est virémique, qu'elle possède des anticorps à des titres élevés et des anticorps anti-tax.

La transmission in utero prouvée dans de rares cas, semble être une modalité mineure, elle peut être argumentée chez des enfants non allaités par une persistance des anticorps anti-HTLV au-delà de l'âge de un an. Les recherches d'IgM anti-HTLV dans le sang du nouveau-né sont restées négatives, ce qui ne constitue par un argument formel contre une transmission transplacentaire. Les tentatives de culture à partir de lymphocytes des nouveau-nés ont abouti à des échecs. Seules les techniques d'amplification génique ont permis à certains auteurs de trouver du génome dans le sang des nouveau-nés avec une grande variabilité des résultats selon les auteurs (de 0 à 100% !). Dans le cadre de revues récentes sur le sujet, on estime que le taux de transmission in utero serait compris entre 0,5 et 5%.

De même, pour l'HTLV-II, la transmission verticale hors allaitement semble exceptionnelle.

L'essentiel de la transmission du HTLV semble postnatal lié à l'allaitement maternel.

Le rôle de l'allaitement des HTLV semble postnatale, liée à l'allaitement maternel.

Le rôle de l'allaitement a été largement prouvé pour l'HTLV-I. Les preuves reposant :

- sur des arguments expérimentaux par transmission du virus per os et allaitement chez le marmouset et le lapin,
- sur des arguments virologiques, le virus est présent dans certains laits maternels (102 à 104 cellules infectées par mL), le taux de positivité des laits atteindrait 89% si on utilise l'amplification génique (PCR),
- sur des arguments épidémiologiques, le pourcentage des enfants contaminés varie significativement selon le mode d'allaitement comme l'ont clairement démontré deux études japonaises dues à Hino et Tsuji. La contamination est de 39 à 46% si l'enfant reçoit un allaitement exclusif au sein, de 10 à 18% s'il bénéficie d'un allaitement mixte, l'allaitement entièrement artificiel ne s'accompagnant dans leur suivi, d'aucune transmission.

Pour l'HTLV-II, la transmission par l'allaitement est vraisemblable une étude par amplification génique démontre la présence du virus dans 83% des laits de mères séropositives.

Si l'allaitement apparaît être le mode majeur de transmission verticale des HTLV, il n'explique pas tout et la progression de la séropositivité avec l'âge ne serait, pour certains auteurs, pas due uniquement à l'augmentation des risques de transmission (transfusion, drogue, sexe ...), mais serait liée à une transmission périnatale qui resterait biologiquement silencieuses durant des années (absence d'anticorps), et qui ne se traduirait qu'après des décennies par une séropositivité. Il semble toutefois que s'il existe des transmissions cryptiques sans séropositivité, elles n'occuperaient qu'une place très limitée dans la transmission.

## ■ CONSEQUENCES DE LA CONTAMINATION

Il faut souligner que si pour le HIV, contamination est pratiquement synonyme de maladie, ce n'est pas le cas pour l'HTLV. On considère que seulement 1% voire 1/1500 sujets infectés par l'HTLV-I ferait une leucémie T et que 1/30 voire 1/100 présenterait une neuropathie.

## ■ PREVENTION

Le risque de contamination par les HTLV a diminué, du moins en France, par une exclusion du don de sang des sujets HTLV+. Reste la transmission par drogues IV et par le sexe.

L'essentiel de la transmission verticale étant postnatal lié à l'allaitement on peut interrompre cette transmission en dépistant les femmes enceintes HTLV+ et en leur interdisant l'allaitement. Cette mesure n'est pas entrée en vigueur, mais est justifiée au moins dans les zones d'endémie.

Il faut impérativement rechercher les anticorps HTLV chez les femmes qui donnent leur lait dans les lactariums (au même titre que le HIV, l'Ag HBs et HCV) pour exclure ces femmes du don. On peut aussi inactiver les virus HTLV dans les laits par chauffage (30 minutes à 56°C), ou processus de congélation-décongélation.

## BIBLIOGRAPHIE

---

- 1- BONIS J., DENIS E Diagnostic virologique des infections dues aux virus HTLV-II et HTLV-II. Tests de dépistage, de confirmation et de différenciation. L'Eurobiologiste 1993, 27, 151-166.
- 2- BONIS J., VERDIER M., DENTS F. Low HTLV-II seroprevalence in Africa.. J. Inf Dis. 1994 (in press).
- 3- COURTOIS F, BARIN F., LARSEN M., BROSSARD D. et al. HTLV-I/II infection in pregnant women in Paris. Lancet 1990, 395, 1103.
- 4- DENIS F., VERDIER M., BONIS J. Transmission verticale de l'HTLV-I. Path. Biol. 1992, 40, 714-719.
- 5- DENIS F., VERDIER M., CHOUT R., RAMIANDRISOA H. et coll. Prévalence du virus HTLV-I chez les femmes enceintes en Afrique noire, en Martinique et d'origine étrangère vivant en France. Bull. Acad. Natl Med. 1988, 172, 717-722.
- 6- GALLO D., PETRU A., YEH E.T., HANSON C.V. No evidence to perinatal transmission of HTLV-II. J. of AIDS 1993, 6, 1168-1170.
- 7- HENEINE W., WOODS T., GREEN D. et al Detection of HTLV-II in breastmilk of HTLV-II infected mothers. Lancet 1992, 340, 1157-1158.
- 8- HJELLE B., CYRUS S., SWENSON S.G. Evidence for sexual transmission of Human T lymphotropic virus type II. Ann. Intern. Med. 1992, 116, 90-91
- 9- KAPLAN J.E., KHABBAZ R.F The epidemiology of human T-lymphotropic virus types I and II. Reviews Med. Virol. 1993, 31 137-148.





# INFECTION PAR LE VIRUS DE L'HEPATITE B : EPIDEMIOLOGIE, HISTOIRE NATURELLE ET TRAITEMENT

G. LESUR, P. DUPUY

## **Abréviations :**

VHB : virus de l'hépatite B

VHD : virus de l'hépatite delta

Ag : antigène

VIH : virus de l'immunodéficience humaine

ALAT : alamine aminotransférase

*Le virus de l'hépatite B (VHB) est un virus du groupe des hépadnavirus, à tropisme hépatique, qui est responsable de l'apparition d'une nécrose et d'une inflammation hépatiques. L'infection par le VHB peut être aiguë ou chronique, symptomatique ou asymptomatique. Nous aborderons successivement ici les données épidémiologiques, l'histoire naturelle et les possibilités thérapeutiques actuelles, préventives ou curatives, de l'infection à VHB.*

## **I. DONNEES EPIDEMIOLOGIQUES**

### **I.1. Epidémiologie descriptive**

On considère habituellement qu'il y a dans le monde au moins 300 millions d'individus porteurs chroniques du VHB (17). Dans les pays développés, l'hépatite aiguë B survient avant tout chez l'adulte et serait responsable d'environ 50% des cas d'hépatites aiguës virales (7). En revanche, l'hépatite chronique B y est relativement rare, puisque sa prévalence est généralement estimée à environ 1% de la population générale. En revanche, dans les pays en voie de développement, l'infection par le VHB est précoce et d'une grande fréquence touchant 5 à 15% des adultes (7). Ces importantes inégalités géographiques sont liées à des conditions socio-économiques, et donc à des modes de contamination, différents. Dans les pays en voie de développement, la transmission verticale de la mère au nouveau-né est le mode essentiel, bien que non exclusif, de contamination et explique en grande partie la précocité de l'infection à VHB. Il est également prouvé que plus la contamination est précoce dans l'enfance, plus le risque de portage chronique est élevé : ainsi, lorsque l'infection par le VHB est contractée par un enfant de moins de 1 an le risque de portage chronique est de 70 à 90%, alors qu'il est de 6 à 10% lorsque l'infection est contractée après 7 ans (17). Les principales régions d'endémie pour le VHB sont l'Afrique Noire, l'Asie du Sud-Est, la Chine et à un moindre degré l'Amérique du Sud et l'Océanie (7). Dans ces régions, la quasi-totalité de la population rencontre le virus B, généralement dans les premières années de la vie, et la prévalence du portage chronique est de l'ordre de 10% (3). En Asie, on considère que 8% de la population est porteuse chronique du VHB, soit près de 250 millions d'individus. En Afrique, le portage chronique toucherait 12% de la population, soit près de 50 millions d'individus. Des calculs prévisionnels de mortalité ont montré qu'en Afrique, sur 20 millions de naissances, 230 000 sujets allaient décéder des conséquences directes de l'infection virale B ; ces mêmes estimations, réalisées en Asie, ont donné des chiffres encore plus dramatiques, puisque pour 82 millions de naissances, 1 million de sujets allaient probablement mourir des complications de l'infection par le VHB (17).

Les pays occidentaux se situent dans une zone de faible endémie avec un pourcentage de porteurs chroniques du VHB variant de 1 à 5% selon les pays (9). En ce qui concerne l'Europe Occidentale, certains auteurs ont individualisé 3 zones épidémiologiquement différentes : la zone I (Royaume-Uni, Scandinavie) où le portage chronique de l'Ag HBs concerne moins de 0,1% de la population ; la zone II (France) où la prévalence du portage chronique de l'Ag HBs est comprise entre 0,1 et 0,5% ; la zone III (Italie, Grèce, Espagne) où la prévalence du portage chronique de l'Ag HBs varie de 1 à 5% (9).

Pour la France, les principales caractéristiques épidémiologiques de l'infection à VHB sont résumées dans le tableau I. En fait, il est possible que ces chiffres sous-estiment la prévalence réelle du portage chronique en France. Ainsi, plusieurs études faites dans des maternités chez des femmes enceintes ont objectivé une prévalence de portage chronique de l'Ag HBs voisine de 1% (9).

**Tableau I : Principales données épidémiologiques  
concernant l'infection à VHB en France (d'après 9)**

Données	Prévalence
Prévalence des marqueurs sériques B tous confondus	5-10%
Prévalence de l'Ag HBs	0,1-0,5%
Incidence d'hépatite aiguë B	10/100 000
Décès liés à l'infection par le VHB	200-300/an
Incidence de l'hépatocarcinome	hommes : 5/100 000 femmes: 1/100 000

Des variations chronologiques de prévalence peuvent également être observées. Une étude Japonaise a ainsi rapporté une réduction du taux de portage chronique de l'Ag HBs de 12 à 0,6% chez les habitants des Iles Goto selon que ceux-ci étaient nés entre 1946 et 1950 ou entre 1971 et 1975 (16). Ces variations de prévalence, qui doivent toujours être interprétées avec prudence, pourraient être liées à une baisse de la transmission horizontale du fait d'une élévation du niveau de vie.

## **1.2. Epidémiologie analytique**

La transmission du VHB se fait par voie parentérale évidente ou par voie parentérale "inapparente" (7). La transmission du VHB nécessite un contact entre un sujet porteur du VHB contaminant et un sujet hôte susceptible de recevoir le VHB. Même si le VHB est moins contagieux que d'autres virus, et en particulier que le virus de l'hépatite A, la présence prolongée du virus dans le sang et certaines sécrétions, notamment sexuelles, chez la plupart des sujets infectés de manière prolongée par le VHB explique qu'une seule exposition, même brève, puisse être à l'origine d'une contamination. Ce risque de contamination est encore majoré par le fait que bon nombre de porteurs chroniques sont asymptomatiques et n'ont donc pas connaissance de leur infectivité potentielle. Des études virologiques ont montré que chez les porteurs chroniques d'Ag HBs le nombre de virions circulants variait de 10 à 108/ ml de plasma. Le risque de transmission apparaît surtout à partir d'une concentration de virions supérieure à 105/ml. Les patients porteurs de l'Ag Hbs et de l'Ag HBe sont particulièrement contagieux car leur plasma contient habituellement au moins 106 virions/ml. En revanche, en présence d'anticorps anti-HBe, le risque de contamination est plus faible mais non nul, en particulier si l'exposition du sujet contact est "abondante".

Le mode habituel de transmission du VHB est la voie parentérale et à un moindre degré percutanée (transfusions sanguines, produits dérivés du sang, accidents de travail des personnels de santé, injections intraveineuses avec du matériel non stérilisé chez les toxicomanes, utilisation de matériel non stérile : acupuncture, tatouage, soins de pédicure ou dentaires). La recherche systématique de l'Ag HBs (obligatoire depuis le 7/10/1981) chez des donneurs de sang a considérablement diminué l'incidence des contaminations post-transfusionnelles, sans toutefois pouvoir annuler complètement ce risque (taux non détectables d'Ag HBs, sujet en période d'incubation ou de convalescence d'une hépatite aiguë B). Le dosage des ALAT sériques et la recherche des anticorps anti-HBc (obligatoire depuis le 1/10/1988) permettent également de diminuer l'incidence des hépatites B post-transfusionnelles, en même temps qu'elle diminue le risque de transmission d'autres hépatites virales à transmission parentérale.

La transmission sexuelle du VHB a été mise en évidence dès les années 1975 et confirmée par la grande prévalence de l'infection à VHB chez les homosexuels et les hétérosexuels à partenaires multiples. Le VHB est détectable dans le sperme et les sécrétions sexuelles féminines, mais à des concentrations beaucoup plus faibles que celles du sang, et la contamination par voie sexuelle nécessite très probablement le plus souvent une lésion cutanée génitale. Ces données expliquent que le risque de contamination sexuelle soit plus élevé en cas de rapports sexuels anaux. La transmission hétérosexuelle du VHB peut s'effectuer de l'homme à la femme et de la femme à l'homme. La diminution du risque de contamination sexuelle par l'utilisation du préservatif a parfois été remise en cause (18).

Chez l'adulte, l'existence d'une contamination familiale non sexuelle est clairement démontrée, même si elle est rare. Ce mode de contamination semble plus fréquent si le sujet infecté est un enfant, essentiellement car la virémie est ici particulièrement élevée et que les contacts sont plus fréquents et plus physiques avec les enfants. Les vecteurs potentiels de ces contaminations familiales non sexuelles sont la salive, la sueur, les larmes, les écoulements nasaux, ainsi que d'éventuelles lésions cutanées, parfois mineures (7). Ce mode de contamination semble particulièrement fréquent dans les pays en voie de développement.

L'existence d'une contamination verticale de la mère à l'enfant est également bien démontrée. Lorsque la mère est porteuse de l'Ag HBs et de l'Ag HBe le risque de contamination est voisin de 90% (7). Le début de l'infection chez le nouveau-né se fait vers 3 mois car le plus souvent la contamination a lieu lors de l'accouchement et dans le post-partum. La transmission in utero, si elle existe, n'excéderait pas 5% des cas mais la découverte récente de l'Ag HBs et du DNA viral dans le cordon ombilical plaident en faveur d'une telle transmission. Bien que l'on retrouve fréquemment des particules virales dans le lait maternel, le rôle de l'allaitement dans la diffusion de l'infection n'est pas bien connu ; toutefois, il est possible qu'il y ait des cas de contamination sanguine à partir d'excoriation du mamelon. En cas de survenue d'une hépatite aiguë B au cours de la grossesse, le risque de transmission au nouveau-né existe mais uniquement si l'hépatite survient lors du dernier trimestre de la grossesse. Dans tous les cas, les nouveau-nés de mères porteuses chroniques du VHB doivent recevoir à la naissance un double traitement associant l'administration d'immunoglobulines anti-HBs et une vaccination complète. Le caractère habituellement latent de l'infection chronique par le VHB impose un dépistage systématique de l'Ag HBs chez la femme enceinte, obligatoire depuis 1992.

Aucun argument sérieux ne laisse penser qu'il existe un risque significatif de transmission orofécale (le VHB n'est quasiment jamais retrouvé dans les selles à des taux potentiellement infectants), ni par l'attouchement, le baiser classique, les ustensiles de repas ... Toutefois, en cas d'hygiène défectueuse, il est possible que certaines de ces modalités de transmission puissent être en cause dans quelques cas.

En ce qui concerne le virus de l'hépatite delta (VHD), sa distribution géographique se superpose, mais en partie seulement, à celle du VHB. On distingue schématiquement trois grandes zones géographiques à situations épidémiologiques différentes (13). Les zones où l'infection est endémique sont le Bassin Méditerranéen (notamment, l'Italie du Sud), l'Europe de l'Est, l'Amérique du Sud et l'Afrique. En revanche, de façon un peu surprenante, le VHD est rare en Asie du Sud-Est. Dans ces régions, la transmission se fait horizontalement par le biais d'une contamination percutanée ou muqueuse inapparente. Dans un deuxième groupe de pays, la situation est épidémique avec des épidémies parfois sévères notamment en Italie du Sud, dans le Bassin Amazonien et en Centre-Afrique. La contamination s'y fait encore de façon inapparente par voie percutanée ou muqueuse. Elle est probablement favorisée par la promiscuité et certaines pratiques ancestrales. L'Europe du Nord et les Etats-Unis sont considérés comme des régions de basse prévalence où les individus à risque sont avant tout les toxicomanes par voie intraveineuse, les hémophiles et à un moindre degré les personnels de santé et hémodialysés. En France, on considère que la prévalence de l'infection à VHD est voisine de 20% chez les toxicomanes par voie intraveineuse. La transmission sexuelle semble rare et d'ailleurs la prévalence de l'infection à VHD est faible chez les homosexuels. Quant à la transmission verticale de la mère à l'enfant, elle reste minoritaire et ne concerne que le sous-groupe des femmes porteuses de l'Ag HBe et répliquant activement le VHB (13).

## II. HISTOIRE NATURELLE DE L'INFECTION A VHB

Etudier l'histoire naturelle de l'infection par le VHB est difficile car dans 80 à 90% des cas cette infection est asymptomatique. Ceci explique que pour la majorité des sujets chez lesquels on met en évidence la preuve sérologique de l'infection virale, il n'existe aucun antécédent suggérant une hépatite aiguë. L'histoire naturelle telle qu'on l'appréhende actuellement ne saurait donc être considérée comme le reflet de l'évolution de l'ensemble des infections chroniques liées au VHB, certaines n'étant découvertes qu'à l'occasion d'une complication (cirrhose, carcinome hépatocellulaire) ou d'une pathologie associée.

Les lésions hépatiques sont dues à la réponse immune car le VHB n'est, en général, pas cyto-pathogène. Les lésions hépatiques sont en réalité la conséquence de la destruction, par le système immunitaire, des hépatocytes infectés présentant les antigènes viraux à leur surface. Il est probable que l'antigène contre lequel la réaction immunitaire est déclenché est l'Ag HBc qui fait partie de la nucléocapside virale. Un argument en faveur d'un tel mécanisme immunitaire est la présence dans l'infiltrat inflammatoire hépatique de cellules "natural killer" et de lymphocytes T. Les manifestations cliniques de l'infection par le VHB dépendent étroitement de l'intensité de la réaction immunitaire du sujet infecté. Ainsi, lorsque la réponse immunitaire est nulle, l'infection est asymptomatique. Si la réponse immune est faible et insuffisante pour éliminer le virus, l'infection évolue vers le portage chronique. Si la réponse immune est faible mais suffisante pour éliminer le virus, l'infection est inapparente mais évolue spontanément vers la guérison. Si la réponse immune est forte et suffisante pour éliminer le virus, l'infection se traduit par une hépatite aiguë symptomatique guérissant sans séquelle. Enfin, si la réponse immune est très forte et le nombre d'hépatocytes élevé, l'infection peut entraîner l'apparition d'une hépatite fulminante, parfois mortelle.

On estime actuellement que chez l'adulte, l'infection aiguë par le VHB donne lieu à une hépatite aiguë inapparente dans environ 65% des cas, à une hépatite aiguë symptomatique dans environ 25% des cas (dont 1% de formes fulminantes) et dans 10% des cas à une hépatite chronique. Le risque de portage chronique du virus est plus important chez l'homme (15%) que chez les femmes (5%). Il peut atteindre 25 à 50% chez le nouveau-né et le sujet immunodéprimé (hémopathie, chimiothérapie, hémodialyse) (3,7).

L'infection chronique par le VHB entraîne des lésions hépatiques de sévérité variée. Chez environ 2/3 des porteurs chroniques, le foie est soit normal, soit le siège de lésions modérées et stable à type d'hépatite chronique persistante. Il est admis que chez ces sujets le risque de voir apparaître une cirrhose est nul ou faible. En revanche, chez un tiers de ces porteurs chroniques, le foie est le siège de lésions sévères à type d'hépatite chronique active, avec un risque élevé d'apparition d'une cirrhose. Ce portage chronique est asymptomatique 8 fois sur 10 (3,7).

L'étude des relations entre la réplication du VHB, les différentes phases évolutives de la maladie et les lésions hépatiques permet de proposer, pour l'histoire naturelle de l'infection chronique à VHB, le modèle suivant (3,7). Dans la première phase, dite de multiplication virale, qui dure habituellement plusieurs années, il y a multiplication active du VHB. On trouve alors dans le sérum l'Ag HBs, l'Ag HBe, l'ADN du VHB et dans le foie l'Ag HBc. A ce stade où la réponse immunitaire est insuffisante, la destruction des hépatocytes est modérée. Dans une seconde phase, la réponse immunitaire devient plus importante entraînant une diminution de la réplication virale et une séroconversion dans le système HBe (apparition des anticorps anti-HBe). A cette phase, l'Ag HBs est toujours présent dans le sérum, l'Ag HBe est soit absent, soit présent, mais les quantités d'ADN viral sont faibles. Durant cette phase, la destruction des hépatocytes est importante car ils expriment à leur surface de grandes quantités d'Ag HBc et parce que la réaction immunitaire est plus forte. C'est donc durant cette phase que l'on observe une destruction des hépatocytes infectés et éventuellement une hépatite chronique active, qui peut aboutir ultérieurement à une cirrhose. Dans une troisième phase, la réplication virale est interrompue mais le génome viral a été intégré dans celui de l'hôte. Le DNA viral et l'Ag HBe ne sont plus détectables dans le sérum et l'activité de la maladie diminue progressivement avant de disparaître. L'intégration du génome viral dans le génome de l'hôte joue probablement un rôle important dans le risque d'apparition du carcinome hépatocellulaire. La fréquence spontanée de passage de l'état de multiplication active à l'inactivation est de l'ordre de 5 à 10% par an.

Cependant au cours de cette troisième phase, des épisodes de réactivation virale durant plusieurs semaines ou mois et au cours desquels la multiplication virale réapparaît, peuvent survenir. Durant ces périodes, l'Ag HBe et le DNA viral sont à nouveau détectables dans le sérum et la destruction des hépatocytes reprend. Ces épisodes semblent particulièrement fréquents chez le sujet de sexe masculin, immunodéprimé et en cas d'administration d'une chimiothérapie, de corticoïdes ou d'immunosuppresseurs. Ils peuvent être à l'origine, d'un tableau clinique d'hépatite aiguë "banale" et le diagnostic de réactivation n'est alors pas toujours évoqué si le caractère chronique de l'infection à VHB n'est pas connu ; ils peuvent également être à l'origine d'une hépatite fulminante mortelle, en particulier chez le sujet infecté par le VIH (15).

Le virus de l'hépatite delta (VHD) est un virus déficient qui a besoin du VHB pour se multiplier et qui aurait, au contraire du VHB, un effet cytopathogène direct (3,13). Du fait de son caractère déficient, toutes les hépatites à VHD sont des doubles infections à VHB et VHD. On distingue la primo-infection double VHB-VHD et la surinfection à VHD d'un porteur chronique du VHB. La primo-infection VHD-VHB ne diffère pas cliniquement de la primo-infection isolée à VHB, si ce n'est parfois par un aspect biphasique de l'augmentation des transaminases. Cet aspect biphasique est en rapport avec l'existence de 2 épisodes successifs de nécrose hépatocellulaire liées à l'élimination successive des 2 virus. La primo-infection double VHB-VHD n'augmente pas le risque de passage à la chronicité ; en revanche, elle augmente le risque d'hépatite fulminante, en particulier chez le toxicomane (10). En ce qui concerne les surinfections à VHD des infections chroniques à VHB, les choses sont bien différentes avec un risque particulièrement élevé de passage à la chronicité et d'évolution vers la cirrhose, puisque dans la plupart des travaux le risque de cirrhose est évalué à environ 80%. Il existe également un risque élevé d'hépatite fulminante en cas de surinfection à VHD chez un sujet porteur chronique du VHB, en particulier en présence de l'Ag HBe (10). Le diagnostic différentiel entre surinfection et co-infection à VHD repose sur la présence des IgM anti-HBc en cas de co-infection. Il est à noter que l'infection à VHD ne semble pas associée à un risque accru d'hépatocarcinome chez l'homme. La rapidité de l'évolution des hépatopathies mixtes à VHB et VHD explique probablement en grande partie ce fait.

Le portage chronique de l'Ag HBs n'est pas nécessairement indéfini car il est admis qu'une faible proportion de sujets, probablement voisine de 1 à 2% par an, perd l'Ag HBs et voit apparaître des anticorps anti-HBs (1). Chez la plupart de ces sujets, cette évolution correspond à une élimination du virus et à une guérison. En revanche, chez certains de ces sujets, bien que l'Ag HBs soit devenu indétectable dans le sérum, le VHB persiste dans le foie. La plupart de ces sujets ont des taux sériques élevés d'Ag HBc.

L'histoire naturelle des porteurs asymptomatiques de l'Ag HBs (avec transaminases normales) a été étudiée par plusieurs équipes. De ces travaux et en particulier du travail récent de De Franchis et al (5) qui a porté sur 92 sujets italiens suivis pendant 10 ans il ressort clairement : 1) que le taux de disparition spontanée de l'Ag HBs est non négligeable (10%) et que chez 2 de ces sujets (2%) des anticorps anti-HBs sont également apparus ; 2) l'activité sérique des transaminases restait normale de manière prolongée chez 58 des 68 sujets suivis régulièrement du point de vue biologique ; 3) qu'aucune des nouvelles biopsies hépatiques faites à 10 ans ( $n = 27$ ) ne montrait d'aggravation des lésions ; 4) qu'aucun cas de surinfection delta ou de carcinome hépatocellulaire n'était à déplorer. Cependant, on remarquera qu'un suivi de 10 ans sur un échantillon numériquement faible ne permet probablement pas de déceler une augmentation du risque de carcinome hépatocellulaire, risque néanmoins déjà évoqué chez les porteurs sains par des auteurs japonais (1). Si l'on exclut ce dernier point pour lequel d'autres études sont nécessaires, ces données démontrent que l'histoire naturelle des porteurs chroniques sains de l'Ag HBs n'est probablement pas très différente de celle d'une population non porteuse chronique de l'Ag HBs.

Le rôle de l'infection à VHB dans la survenue du carcinome hépatocellulaire est admis par tous (19). La répartition géographique des régions à fort taux de carcinomes hépatocellulaires est d'ailleurs tout à fait superposable à celle des régions d'endémie du VHB (19). Ainsi, l'Ag HBs est retrouvé dans le sérum d'environ 80% des sujets ayant un carcinome hépatocellulaire en Asie du Sud-Est (19). Le risque de carcinome hépatocellulaire serait 100 fois plus important chez le porteur chronique du VHB que chez le sujet non infecté (19). Le carcinome hépatocellulaire complice habituellement l'évolution d'une cirrhose. L'intégration du génome viral dans les hépatocytes, et donc la modification du patrimoine génétique, du sujet infecté par le VHB, est l'élément clé de la cancérogenèse chez ces malades.

---

### III TRAITEMENT

---

#### III.1. Traitement préventif

Il repose sur la vaccination dont l'efficacité (95%) et la tolérance sont bien démontrées (6). Le protocole de vaccination comprend 3 injections de 1 ml à un mois d'intervalle et un rappel à un et 5 ans. On dispose actuellement de 2 types de vaccins : les vaccins préparés à partir du plasma de porteurs du VHB et les vaccins recombinants produits par génie génétique. La stratégie vaccinale actuellement proposée en France consiste à vacciner les sujets à risque : personnels de santé (obligatoire depuis 1990), homosexuels, immunodéprimés ou candidats à des transplantations d'organes, nouveau-nés de mères infectées. Il a été démontré que ce type de stratégie vaccinale ne permettait pas de réduction du nombre de nouveaux cas d'hépatites B (6). Le rôle de la non compliance à la vaccination dans certains groupes, et en particulier dans les personnels de santé, dans cette non diminution est impossible à évaluer avec certitude mais probable (6). En revanche, des calculs de simulation mathématique ont montré qu'une politique vaccinale intensive (vaccination des enfants à la naissance, des adolescents à la puberté, des nouveau-nés de mères porteuses avec immunisation effective et contrôlée de tous les sujets à risque) permettrait de diminuer l'incidence des hépatites aiguës B d'environ 50%. Il est temps que les pouvoirs publics prennent leurs responsabilités en rendant obligatoire la vaccination contre le VHB chez tous les adolescents avant la pratique des comportements à risque (relations sexuelles, toxicomanie) (12).

Il existe de mauvais répondeurs à la vaccination qui sont les sujets atteints d'insuffisance rénale ou traités par hémodialyse, les candidats à une transplantation d'organe, les alcooliques avec ou sans cirrhose. Les nouveaux vaccins recombinants pourraient permettre d'obtenir des meilleurs taux de réponse, notamment chez les alcooliques, mais ce bénéfice demande à être confirmé. De plus, environ 5% des sujets sains ne répondent pas à la vaccination. Un certain nombre de ces absences de réponse à la vaccination serait génétiquement déterminé et en rapport avec une anomalie du gène dominant régissant la réponse à l'Ag HBs et situé sur le complexe majeur d'histocompatibilité (6).

Dans les pays en voie de développement le problème de la vaccination est particulièrement crucial et se heurte à des problèmes économiques évidents. Cependant, plusieurs études ont démontré que l'association immunoprophylaxie passive anti-HBs et vaccination contre le VHB était capable de protéger 95% des nouveau-nés contre le risque d'infection par le VHB (2). D'autres travaux ont montré que cette protection était prolongée pendant au moins 4 à 5 ans (8).

Un fait récemment constaté et potentiellement préoccupant est l'apparition de mutants qui seraient induits par la vaccination. Ainsi en Italie, le suivi de 1000 sujets vaccinés correctement avec apparition d'anticorps anti-HBs, a permis de mettre en évidence chez 3% des sujets l'Ag HBs dans le sérum, dans certains cas en association avec l'Ag HBe (4). Ces anomalies, si elles se confirment et sont mises en évidence dans d'autres régions, mériteront de toute évidence d'être prises au sérieux.

### III.2. Traitement curatif médical

Le traitement des hépatites chroniques B reste aléatoire et controversé. Cependant, la gravité de ces hépatites chroniques, dans leur forme active, impose une thérapeutique active. Seules des études prospectives contrôlées permettent d'évaluer avec rigueur les résultats des traitements et d'en déduire des indications thérapeutiques raisonnables.

Les indications des traitements au cours de l'infection chronique à VHB concernent les malades ayant à la fois : 1) une maladie cliniquement (asthénie) ou biologiquement (élévation des transaminases) active ; 2) à la ponction-biopsie hépatique, une hépatite chronique active, si possible avant la constitution d'une cirrhose ; 3) des marqueurs sérologiques de réplication virale (Ag HBe, DNA viral).

Plusieurs molécules ont fait la preuve de leur efficacité au cours du traitement des hépatites chroniques virales B : il s'agit essentiellement de la vidarabine et de l'interféron. Des associations thérapeutiques sont également parfois utilisées. La vidarabine par voie intraveineuse, ou son dérivé monophosphaté (adénine arabinoside 5'-monophosphate) administrable par voie intramusculaire, permettent lorsqu'ils sont administrés aux sujets hétérosexuels en phase de multiplication virale, d'obtenir un arrêt de la multiplication virale dans environ 30 à 40% des cas, mais sans jamais de disparition de l'Ag HBs. Cet effet sur la multiplication virale est le plus souvent associé à une amélioration histologique. Les effets secondaires de la vidarabine sont fréquents et dominés par les atteintes neuro-musculaires qui surviennent à long terme et imposent une surveillance électromyographique régulière.

L'interféron alpha a également largement été utilisé à une posologie variant de 2,5 à 10 millions (habituellement 3 fois par semaine pendant 6 mois) mais actuellement, la plupart des travaux consacrés aux hépatites chroniques B utilisent une posologie de 5 millions. Une méta-analyse récemment publiée permet de préciser les résultats de l'interféron alpha dans cette indication : perte de l'Ag HBs : 8% versus 2% dans le groupe non traité ; arrêt de la réplication virale : 33% versus 12% dans le groupe non traité (22). L'interféron alpha est également susceptible de faire apparaître des anticorps anti-HBs, voire anti-HBe et de normaliser les transaminases (22). L'effet sur la réplication virale est souvent prolongé sur plusieurs années (14). Les effets indésirables de l'interféron sont dominés par les syndromes pseudo-grippaux, fréquents, survenant en début de traitement et répondant habituellement bien au traitement symptomatique curatif ou préventif. Les autres effets indésirables sont dominés par les dysthyroïdies, parfois persistantes malgré l'interruption du traitement, les troubles neurologiques (syndrome dépressif, nervosité) et de multiples troubles mineurs: alopecie, douleurs abdominales, diarrhée, ...

D'autres travaux réalisés ont voulu tester l'intérêt d'associations thérapeutiques telles que vidarabine-interféron, interféron-zidovudine, interféron-levamisole, interféron-ribavirine. La supériorité de ces associations sur la monothérapie par l'interféron alpha n'est pas démontrée, alors que la iatrogénicité de ces associations est habituellement plus importante. Quant à l'association cortico-thérapie brève (4 à 6 semaines), suivie par l'administration d'interféron alpha ou de vidarabine, elle a été étudiée dans plusieurs travaux et vise à améliorer les résultats de la monothérapie par l'intermédiaire d'un rebond immunitaire. Dans le travail de Perrillo et al (20), étudiant l'association cortico-thérapie brève puis interféron, une séroconversion HBe était obtenue dans 44% des cas (sur 18 patients) et surtout une disparition de l'Ag HBs dans 22% des cas. Une autre étude multicentrique faite par les mêmes auteurs chez 163 malades a donné des résultats moins convaincants, sauf dans le sous-groupe des sujets ayant en début de traitement des ALAT peu élevées (21). La supériorité de cette association est donc à confirmer. Il en est de même en ce qui concerne l'association cortico-thérapie-vidarabine. De plus, ces associations thérapeutiques peuvent s'accompagner d'une stimulation immunitaire telle qu'elle peut entraîner une nécrose hépatocytaire sévère ; leur emploi semble donc à éviter en cas de cirrhose. Il est admis que la corticothérapie prolongée en monothérapie est susceptible d'aggraver l'évolution des hépatopathies chroniques virales B et qu'un tel traitement est donc contre-indiqué chez ces malades.

**Tableau II : Facteurs prédictifs d'efficacité antivirale dans les hépatites chroniques B**

- Hépatite B avec antigène HBe
- Affection acquise récemment
  - Origine caucasienne
  - Hétérosexuel
  - VIH négatif
- Pas de maladie associée
- Transaminases élevées
- Activité histologique importante dans les régions lobulaires et périportales
- Faible taux d'ADN du VHB
- Absence de surinfection delta

Les principaux facteurs prédictifs de réponse au traitement antiviral sont présentés dans le tableau II (7).

L'utilisation de l'interféron alpha peut parfois être associée à une amélioration clinique et à un effet antiviral même en cas de cirrhose. Il paraît alors souhaitable d'utiliser des doses plus faibles d'interféron et de surveiller particulièrement ces malades, car il existe un risque d'aggravation de la fonction hépatocellulaire en début de traitement (11).

Le traitement des hépatites chroniques actives B-delta reste assez décevant avec un effet souvent modeste et très transitoire de l'interféron alpha, malgré l'utilisation de fortes doses. De plus, il n'y a pas d'effet sur la virémie ou l'expression hépatocytaire de l'Ag Delta (13).

### III.3. Traitement chirurgical

Les cirrhoses virales B et B-D sévères constituent une des indications actuelles de la transplantation hépatique. Le risque de récurrence de la maladie virale après la transplantation hépatique est important, en particulier chez les malades ayant une répllication virale importante avant la transplantation. L'administration prolongée et à hautes doses d'immunoglobulines anti-HBs en post-opératoire permet le plus souvent de prévenir la récurrence de l'infection virale.

Avec ce protocole, la survie actuarielle après transplantation est d'environ 80 et 75% à respectivement 1 et 2 ans. En cas de cirrhose B-D, la survie est de l'ordre de 86% à 4 ans avec un taux de réapparition de l'Ag HBs faible (moins de 10%), à condition que ces malades reçoivent une immunoprophylaxie passive anti-HBs identique à celle utilisée en cas de cirrhose B (7).

## ■ REFERENCES

1. Anderson MG, Murray-Lyon IM. Natural story of the HBsAg carrier. Gut 1985 ; 26 : 48-60.
2. Beasley RP, Hwang L., Chin-Yun-Lee G et al. Prevention of perinatally transmitted hepatitis B virus infections with hepatitis B immune globulin and hepatitis B vaccine. Lancet 1983 ; II (8359) : 1099-102.
3. Benhamou JP. Hépatites chroniques, In "Maladie du foie et des voies biliaires". Eds Benhamou JP, Erlinger S. Paris, Flammarion Médecine-Sciences, 1986 : pp 45-51.
4. Carman WF, Zanetti AR, Karayiannis P et al. Vaccine-induced escape mutant of hepatitis B virus. Lancet 1990 ; 336 : 325-9.
5. De Franchis R, Meucci G, Vecchi M et al. The natural history of asymptomatic hepatitis B surface antigen carriers. Ann Intern Med 1993 ; 118 : 191-4.
6. Degos F Vaccin contre le virus de l'hépatite B. Bilan et perspectives. Gastroenterol Clin Biol 1992 ; 16 : 927-31.
7. Dusheiko G, Hoofnagle JH. Hepatitis B. In "Textbook of Clinical Hepatology". Eds McIntyre N, Benhamou JP, Bircher J, Rizzetto M, Rodes J. Oxford University Press, 1991 : pp 571-92.
8. Fortuin M, Chotard J, Jack AD et al. Efficacy of hepatitis B vaccine in the Gambian expanded programme on immunisation. Lancet 1993 ; 341 : 1129-31.
9. Goudeau A and the European Regional Study Group. Epidemiology and eradication strategy for hepatitis B in Europe. Vaccine 1990 ; 8 (Suppl) : S113-6.
10. Govindarajan S, Chin KP, Redeker AG, Peters RL. Fulminant B viral hepatitis : role of delta agent. Gastroenterology 1984 ; 86 : 1417-20.
11. Hoofnagle JH, Di Bisceglie AM, Waggoner JG, Park Y. Interferon alpha for patients with clinically apparent cirrhosis due to chronic hepatitis B. Gastroenterology 1993 ; 104 : 1116-21.
12. Hoofnagle JH. Toward universal vaccination against hepatitis B virus. N Engl J Med 1989 ; 321 : 1333-4.
13. Hoofnagle JH. Type D hepatitis. Jama 1989 ; 261 : 1321-5.
14. Korenman J, Baker B, Waggoner J, Everhart JE, Di Bisceglie AM, Hoofnagle JH. Long-term remission of chronic hepatitis B after alpha-interferon therapy. Ann Intern Med 1991 ; 114 : 629-34.
15. Levy P, Marcellin P, Martinot-Peignoux M, Degott C, Nataf J, Benhamou JP. Clinical course of spontaneous reactivation of hepatitis B virus infection in patients with chronic hepatitis B. Hepatology 1990 ; 12 : 570-4.
16. Matsuo A, Kusumoto Y, Ohtsuka E et al. Changes in HBs Ag carriers rate in Goto Islands, Nagasaki Prefecture, Japan. Lancet 1990 ; 335 : 955-7.
17. Maynard JE. Hepatitis B : global importance and need for control. Vaccine 1990 ; 8 (suppl) : S18-20.
18. Minuk GY, Bohme CE, Bowen TJ et al. Efficacy of commercial condoms in the prevention of hepatitis B virus infection. Gastroenterology 1987 ; 93 : 710-4.

19. Okuda K, Okuda H. Primary liver cell carcinoma. In "Textbook of Clinical Hepatology". Eds McIntyre N, Benhamou JP, Bircher J, Rizzetto M, Rodes J. Oxford University Press, 1991 : pp 1019-53.
20. Perrillo RP, Regenstein FG, Peters MG et al. Prednisone withdrawal followed by recombinant alpha interferon in the treatment of chronic type B hepatitis. A randomized controlled trial. Ann Intern Med 1988 ; 109 : 95-100.
21. Perrillo RP, Schiff E, Davis GL et al. Multicenter randomized controlled trial of recombinant alpha interferon alone or following prednisone withdrawal in chronic hepatitis B. Hepatology 1989 ; 10 : A 579.
22. Wong DKH, Cheung AM, O'Rourke K et al. Effect of alpha-interferon treatment in patients with hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B. Ann Intern Med 1993 ; 119 : 312-23.



# HEPATITE VIRALE A VIRUS C

P. DUPUY et G. LESUR

CAHIER  
DE  
**Formation**  
version numérique

Plusieurs faits donnent à l'hépatite C (HC) le statut d'un important problème de santé publique.

- 1 - Plus de 85% des hépatites post-transfusionnelles sont en rapport avec le virus C (VHC).
- 2 - La fréquence de l'infection par le VHC en France est estimée à 364 000 à partir des dons du sang et à 868 000 à partir du contrôle des femmes enceintes (1,2). On admet que le VHC est présent chez environ 2% de la population générale française.
- 3 - L'hépatite aiguë à VHC (HAC) évolue vers une hépatite chronique dans plus de 50% des cas. L'incidence de cette maladie est probablement de 20 à 30 000 cas par an.
- 4 - Environ 60% des hépatites chroniques C (HCC) évoluent en 10 à 20 ans vers une cirrhose, qui elle-même, en 10 à 20 ans peut se compliquer d'un hépatocarcinome.
- 5 - On ne connaît le VHC que depuis 1989 (3), et depuis cette date, la possibilité de mettre en évidence un marqueur de ce virus a permis de lui rattacher plus de 90% des "hépatites non A, non B".
- 6 - L'interféron (ITF) a montré une efficacité dans le traitement des hépatites chroniques virales. Il a été employé dès 1980 en ce qui concerne l'hépatite chronique B (4) et depuis 1986 pour l'hépatite non A, non B (5). A partir de 1989 une dizaine d'études ont été publiées sur les résultats de cette molécule dans le traitement de l'HCC ou de l'HAC. Globalement, ce traitement fait espérer la diminution du risque de l'évolution cirrhotique et cancéreuse de la maladie, cependant actuellement non prouvée.

C'est donc depuis 4 ans environ qu'est apparu le problème médical et d'économie de la santé que représente l'HC.

Car il s'agit d'un problème à deux titres :

- son dépistage,
- les conséquences médicales et économiques de ce dépistage, le traitement par ITF étant long et coûteux.

## I. LE DEPISTAGE DE L'HEPATITE CHRONIQUE C

Ce dépistage (ou ce diagnostic) est aléatoire.

1 - L'hépatite aiguë à virus C est asymptomatique dans environ 90% des cas. Dans 10% des cas, un ictère, une asthénie, des troubles dyspeptiques, des douleurs abdominales peuvent amener au diagnostic. L'HAC n'est jamais fulminante (les rares cas rapportés concernaient des infections doubles B, E et C (6, 7)). Ce caractère asymptomatique fait donc que l'HAC passe pratiquement toujours inaperçue. Ce n'est donc qu'exceptionnellement qu'une infection par le VHC peut être dépistée au stade aigu. Lorsque cela a été possible, le risque connu de 50% (probablement sous-estimé (9)) d'évolution vers l'hépatite chronique doit entraîner la surveillance des transaminases (ALAT) du patient sur plusieurs mois. Aucun facteur ne permet de prédire le passage à la chronicité. Il semble raisonnable d'admettre qu'un taux d'ALAT encore élevé 3 mois après le début de l'affection permet de définir ce passage.

2 - Le dépistage de l'hépatite chronique C se fera donc presque toujours à partir d'un dosage d'ALAT demandé soit chez des sujets à risque, soit à cause de symptômes vagues (asthénie, troubles digestifs), le plus souvent en l'absence de signe d'appel, donc chez des sujets en parfaite santé apparente. Dans une étude récente (8) portant sur 10 513 patients, 295 dosages d'ALAT ont été demandés (227 pour des symptômes, 68 pour appartenance à un groupe à risque). Les ALAT étaient augmentées chez 60 d'entre eux. Cette augmentation était en rapport avec le virus C chez 10 patients (8 dans le groupe "à risque" (11,8%), 2 dans le groupe "symptômes" (4,5%)). Cette étude confirme que la recherche des facteurs de risque par l'interrogatoire est importante dans le dépistage de l'HC. Ces facteurs de risque sont essentiellement les antécédents de transfusion et/ou de chirurgie et la toxicomanie ancienne ou récente. Néanmoins, cette recherche de facteurs de risque est insuffisante puisque seulement 60% des HCC répondent à cette étiologie. Les 40% restants ont eu un mode de contamination hypothétique, et pour l'instant nullement prouvé (partenaires sexuels de sujets infectés (les marqueurs du VHC sont présents chez 10% des conjoints de sujets ayant une HC (43)), mais d'autres études ne les ont pas retrouvés, contact familial non sexuel, exposition professionnelle, tatouages, acupuncture, mésothérapie). Un bas niveau socio-économique est retrouvé dans 28% des infections par le VHC. Enfin, la

transmission mère-enfant paraît très limitée (inférieure à 5% ), sauf en cas d'infection associée par le VIH, où elle atteint 50% (43).

Il s'agit donc d'une maladie que l'on doit dépister chez des sujets apparemment bien portants, qui, pour 60% d'entre eux, ont eu une raison parentérale d'avoir contracté le VHC.

Le diagnostic se fera sur la séquence d'examens biologiques suivants :

- ALAT supérieures à la normale (ne dépassant que rarement 10 fois la norme).
- Détection d'anticorps anti-VHC par une technique ELISA de seconde génération qui contient deux protéines codées pour une région non structurale du génome viral. Ces anticorps apparaissent parfois de façon retardée, plusieurs semaines à plusieurs mois après le contagage. Il ne faut donc pas hésiter à répéter le test en cas de négativité initiale, s'il existe une forte présomption d'HC. La relation entre la présence de ces anticorps et l'activité ou l'inféctivité de la maladie hépatique est encore incertaine. En effet les donneurs séropositifs pour le VHC ne transmettent une HC qu'une fois sur deux, et l'anticorps anti-VHC peut ne représenter chez certains patients qu'une séquelle d'une HC. Globalement, le taux d'inféctivité paraît plus grand quand le taux d'anticorps est élevé. Enfin, il existe des faux positifs en cas d'hypergammaglobulinémie, notamment dans les hépatites auto-immunes.
- Ces notions, essentiellement les faux positifs, font qu'il est impératif de confirmer le test ELISA positif par un test RIBA (immunoblot). En effet, alors que le test ELISA ne peut reconnaître les différents anticorps dont il révèle la présence, le test RIBA de deuxième génération distingue les anticorps dirigés contre les antigènes qu'il inclut (c5-1-1, c100-3, c33-c, c22-3). Actuellement des tests ELISA et RIBA de troisième génération voient le jour, qui semblent respectivement être plus spécifiques pour l'ELISA et plus sensible pour le RIBA.
- Enfin, le diagnostic formel de la virémie VHC est basé sur la détection sérique de l'ARN viral par amplification génomique (PRC). Ce test, dont la difficulté technique fait qu'il n'est pas encore de routine, a l'avantage d'une grande sensibilité et de donner des informations sur la réplication virale et la contagiosité. On verra son importance dans l'appréciation de l'efficacité du traitement. Un nouveau test, le NATIA (Nucleic Acid Tagged Immunoassay) devrait permettre d'augmenter considérablement la sensibilité de la recherche d'anticorps anti-VHC, en couplant une réaction antigène-anticorps classique avec une PCR.

En résumé, le dépistage de l'HC suit le cheminement suivant :

1) sujets à risque ou signes cliniques, 2) élévation des ALAT, 3) présence des anticorps anti-VHC en ELISA, 4) confirmation par le RIBA-test, et éventuellement 5) recherche de l'ARN viral en PCR.

## II. CONSEQUENCES DU DEPISTAGE

La conséquence du diagnostic d'HCC est de poser le problème d'un traitement long et coûteux (dont la durée et les doses optima ne sont pas encore nettement définies), dans le but actuellement encore hypothétique d'éviter la cirrhose et le cancer du foie d'une part, et de diminuer le nombre de porteurs potentiellement contaminants d'autre part.

Les arguments pour instituer ce traitement par l'ITF sont le risque important de cirrhose et d'hépatocarcinome, l'effet antiviral de l'interféron et les résultats des premières études contrôlées.

- 1 - Le risque d'apparition d'une cirrhose au cours de l'évolution d'une HCC est de 60%.
- 2 - Le risque de carcinome hépatocellulaire est de 20%.
- 3- L'effet antiviral de l'ITF : l'ITF est une protéine d'origine leucocytaire produite naturellement par l'organisme en réponse à une infection virale. Elle possède des propriétés antivirales et immunomodulatrices. L'action antivirale directe n'est pas certaine. L'ITF induit dans les cellules un blocage des différentes étapes du cycle de réplication virale : il stimule la production de deux enzymes ARN-dépendantes, la 2-5 adénylate synthétase (2-5AS) et la protéine kinase 68, et ces deux enzymes vont bloquer la traduction de l'ARN messager et l'initiation de la synthèse protéique. Cet effet antiviral a été démontré efficace dans un certain nombre d'affections virales, dont l'hépatite chronique à virus B. En ce qui concerne l'HCC, il a été démontré que l'ITF, outre son activité antivirale, accentue les mécanismes de défense immunologique en facilitant la clairance virale par le biais de la modulation de la production de certaines cytokines : il réduit dans le foie et les cellules mononucléées du sang le taux de TGF- $\beta$ , cytokine dont l'expression est augmentée dans l'HCC, et qui stimule la fibrogénèse et inhibe les fonctions des lymphocytes effecteurs (21). En outre, l'ITF stimule la production de TNF- $\alpha$ , cytokine ayant des propriétés antivirales synergiques de celles de l'ITF (22). Le taux de cette cytokine a été trouvé plus élevé chez les patients bons répondeurs au traitement par l'ITF.

4 - Les résultats des nombreuses études, qui ont montré globalement un arrêt de la réplication virale avec retour durable des ALAT à la normale dans environ 25% des cas. Ce pourcentage assez bas devrait s'améliorer au fur et à mesure que les nouvelles études vont permettre l'optimisation des modalités du traitement (doses, durée, association à d'autres molécules). Le point actuel de ces études confirme l'efficacité de l'ITF qui s'est révélé capable d'induire des rémissions transitoires, mais plus rarement durables, au cours des HCC :

Cinq études (10, 11, 12, 13, 14) portant sur 157 patients recevant 2 ou 3 MU d'ITF par voie sous-cutanée, 3 fois par semaine pendant 6 mois, ont montré qu'environ 40% normalisent totalement leurs ALAT. A ces patients répondeurs complets s'ajoute un certain nombre de répondeurs partiels, qui peut être évalué à 20%. La comparaison entre les posologies de 1 MU et 3 MU a permis de conclure à la supériorité de la dose de 3 MU. Des doses d'attaque plus élevées (15, 16), ou des doses croissantes en cas de non-réponse (17) n'augmentent pas le nombre des répondeurs. L'adaptation des doses selon l'évolution des ALAT en cours de traitement donne des résultats un peu supérieurs à ceux obtenus avec des doses continues non adaptées (15, 16). La prolongation de la durée du traitement avec des cures de 9 à 18 mois ne semble pas augmenter significativement le taux de réponses observé à l'issue de ce traitement.

La rechute à l'arrêt de l'ITF est fréquente : 50% des patients répondeurs complets rechutent dans les 6 mois (10, 11, 12, 13). A un an, seuls 20% des patients traités restent en rémission. Les patients qui rechutent sont sensibles à un retraitement qui, aux mêmes doses, donnent des résultats identiques à la première cure. L'utilisation de faibles doses d'ITF en traitement d'entretien paraît pouvoir maintenir en rémission un certain nombre de patients tant que l'ITF est poursuivi (18). Enfin, si comme on l'a vu, les posologies supérieures à 3MU pendant le traitement d'attaque, de même que l'augmentation de la durée de ce traitement à 12 mois ne modifient pas le taux de réponse, ces méthodes diminuent significativement le taux de rechute après l'arrêt chez les répondeurs complets.

Sur le plan histologique, le traitement par l'ITF entraîne une amélioration des lésions. L'activité inflammatoire diminue après 6 ou 12 mois de traitement et un effet sur la fibrogénèse a été observé après 12 mois de traitement (19). Cet effet antifibrogénique va de paire avec la normalisation des taux sériques du procollagène type III (PIIIP), marqueur de l'activité fibrogénique dans le foie (20).

Enfin, il a été démontré une amélioration du métabolisme hépatique, par la détermination séquentielle de la clairance de l'antipyrine, chez les patients répondeurs à l'ITF (21, 22).

Compte-tenu de ces arguments en faveur du traitement de l'HCC par l'ITF, des échecs constatés lors des études, du fait que l'efficacité pratique de ce traitement (c'est-à-dire la diminution des cirrhoses post-HCC et de l'hépatocarcinome) ne pourra être jugée que dans une dizaine, voire une vingtaine d'années, les questions qui se posent sont :

- A qui risque-t-on de rendre service ?
- Chez qui risque-t-on d'être inefficace ?

Pour répondre à ces questions, on dispose d'arguments découlant des différentes études. Les facteurs prédictifs de bonne réponse au traitement sont :

- la baisse du taux des ALAT au bout d'un à deux mois de traitement,
- l'importance des lésions histologiques dont la gravité est appréciée par le score de Knodell (qui quantifie les éléments suivants : 1 : nécrose péri-portale (0 à 10), 2 : nécrose lobulaire (0 à 4), 3 : inflammation portale (0 à 3), 4 : fibrose (0 à 4), Score total : 0 à 22) Plus ce score est bas, meilleur sera le résultat thérapeutique. Des lésions de cirrhose constituée sont associées à une mauvaise réponse à l'interféron (10, 23, 14),
- le taux des gamma-GT bas (24),
- le taux de ferritine bas (24),
- la brève durée de l'évolution de la maladie au moment de la mise sous ITF : un taux de 70% de réponses après 1 an de traitement a été constaté lorsque cette durée d'évolution était inférieure à 18 mois (18),
- le sexe féminin serait assorti d'un meilleur taux de réponse. Cette observation semble très inconstante et pourrait être en partie liée à des doses d'ITF rapportées à la surface corporelle plus élevées chez les femmes (13),
- l'âge jeune du patient, qui se recoupe en général avec une évolution brève de la maladie au moment de la mise sous traitement.

a) On considère actuellement que l'efficacité la meilleure du traitement par l'ITF est observée :

- chez le sujet jeune, de sexe féminin,
- dont la contamination est récente,

- dont les taux de gamma-GT et de ferritine sont normaux,
  - dont le score de Knodell est égal ou inférieur à 6.
- b) Il semble moins efficace de traiter :
- les sujets porteurs de lésions histologiques de cirrhose. Néanmoins, si le taux de réponses est plus bas chez ces patients, il atteint 40%, sans que le traitement n'entraîne de complication particulière (25),
  - les sujets à contamination ancienne,
  - les sujets dont la contamination est transfusionnelle. Chez ces patients, les résultats de la clairance de l'antipyrine après traitement sont moins bons que ceux dont la contamination est due à des injections de toxicomanie (21),
  - les sujets dont le score de Knodell est supérieur à 15,
  - les sujets dont les taux de gamma-GT et/ou de ferritine sont élevés,
  - les sujets chez qui apparaissent en cours de traitement des anticorps anti-ITF neutralisants qui pourraient être responsables de phénomènes d'échappement,
  - les sujets infectés par le génotype II du VHC répondent significativement moins souvent à l'ITF que ceux infectés par les génotypes III et IV. Cette différence serait liée à la plus forte concentration sérique de particules virales circulantes chez les malades infectés par le génotype II.
- c) Une contamination survenant au-delà de 60 ans doit-elle entraîner un traitement long et onéreux dans le but non encore prouvé d'éviter une cirrhose à 80 ans et un hépatocarcinome à 90 ans ?
- d) Lorsqu'exceptionnellement est diagnostiquée une HAC, doit-on la traiter, sachant que plus de 50% d'entre elles évoluent vers l'HCC ? Les premières études (26, 27, 28) donnaient les résultats suivants : chez les patients traités : 23 % de passage à la chronicité, chez les non traités : 74%. Résultats encourageants, confirmés par une étude japonaise qui démontre que plus la dose d'interféron est élevée et plus la durée est prolongée, meilleur est le taux de guérison (100% après retraitement). Cette guérison se traduit par une normalisation des ALAT et une négativation de la recherche de l'ARN viral par PRC. Néanmoins, la répartition mondiale des différents génotypes du virus est très hétérogène, et ce résultat japonais demande à être confirmé ailleurs.

### III. D'AUTRES MOLECULES ONT ETE ESSAYEES

Les corticoïdes n'ont pas démontré d'efficacité dans le traitement des HC (29).

L'acyclovir a lui aussi été testé sans succès dans les hépatites non A, non B avant la découverte du VHC (30).

La ribavirine, à la posologie de 1000 à 1200 mg administrés quotidiennement per os pendant 3 à 6 mois, a entraîné une diminution significative des ALAT, une diminution du titre d'ARN viral circulant et une amélioration histologique dans 33% des cas (31, 32). Aucun effet secondaire grave n'a été observé durant le traitement. Cet effet de la ribavirine vis-à-vis du VHC demande à être confirmé, mais la possibilité pour cette molécule d'être administrée per os est un atout pour envisager des traitements prolongés ou une association avec l'ITF.

L'acide urso-désoxycholique (AUDC) a fait preuve de son efficacité en association avec l'ITF lorsque le traitement est poursuivi 12 mois (57% de réponses pour interféron plus AUDC vs 32% pour interféron seul dans une étude (33) et 71% vs 57% dans une autre (34)). Cet effet pourrait passer par le biais du traitement du versant cholestatique de la maladie et serait donc indiqué préférentiellement chez les patients ayant un taux de gamma-GT élevé.

### IV. ASPECTS PARTICULIERS DE L'HCC

1 - Le mode de contamination fait qu'un certain nombre de patients atteints de HCC sont porteurs du VIH. Cette association, même si les patients sont traités par l'AZT, ne change pas l'efficacité de l'ITF vis-à-vis de l'HCC (35).

2 - Il existe certains liens entre l'HCC et hépatite auto-immune, en particulier dans un sous-groupe caractérisé par la présence d'anticorps anti-microsome de foie et de rein (anti-LKM1), antinucléaires, anti-muscle lisse et anti-thyroïde. Dans ces cas, la positivité des anticorps anti-HCV doit impérativement être confirmée par un RIBA-test. S'il s'agit bien d'une HCC associée à la présence d'anticorps anti-LKM1, l'ITF ne modifie pas le titre des auto-anticorps et n'entraîne pas d'aggravation de la cytolysé hépatique (36, 37, 38). De même, l'ITF n'aggrave ni ne fait apparaître de manifestation auto-immune associée (syndrome de Sjögren, thyroïdite de Hashimoto). En revanche, s'il s'agit d'une hépatite auto-immune authentique avec détection d'anticorps anti-VHC, l'ITF peut aggraver les lésions. Autrement dit l'origine auto-immune d'une hépatite contre-indique l'ITF tandis que la présence d'auto-anticorps au cours des HCC

n'est qu'un épiphénomène qui n'empêche pas la prescription.

3 - L'infection à VHC semble très fréquente chez les patients porteurs d'une cryoglobulinémie de type II, expliquant certains tableaux de vascularites, de lichen érosif ou de glomérulonéphrites membranoproliférative (39, 40, 41). L'ITF semble avoir une efficacité dans 75% sur les manifestations cliniques de ces cryoglobulinémies (44).

4 - Le VHC serait également à l'origine de la plupart des cas de porphyrie cutanée tardive (42).

5 - En cas de cirrhose post-hépatitique C sévère, compliquée d'hypertension portale et/ou d'insuffisance hépatocellulaire, une transplantation hépatique peut être discutée. Les critères de gravité sont les mêmes que ceux utilisés pour les cirrhoses d'autre origine notamment virales B ou alcooliques. Le risque de récurrence de l'infection par le VHC semble constant, mais la fréquence et surtout la sévérité de la maladie hépatique semblent bien inférieures à celles observées au décours des transplantations pour hépatopathie B. Pour tenter de réduire la réplication virale avant la transplantation, un traitement par l'ITF peut être proposé.

#### Abréviations utilisées :

**HC** : hépatite C

**VHC** : virus de l'hépatite C

**HCC** : hépatite chronique à virus C

**HAC** : hépatite aiguë à virus C

**ITF** : interféron

**AUDC** : acide ursodéoxycholique

**ALAT** : alanine aminotransférase

### **BIBLIOGRAPHIE**

- 1- JANNOT C et col. Lancet, 1989, 2, 796-7
- 2- ROUDOT-THORAVAL F. Poster. Symposium des 22 et 23 mai 1992 (Shering-Plough)
- 3- CHOO KC, KUO G, WEINER AJ, OVERBY LR, BRADLEY DW, HOUGHTON M. Isolation of a cDNA derived from a blood-born non A, non B viral hepatitis genome Science, 1989, 244, 359-362
- 4- WEIMAR W, HEIJTINK RA, TENKATE FJP, SCHALM SW, MASUREL N, SCHELLENKEN SH, CANTELL K. Double-blind study of leucocyte interferon administration in chronic HBsAg-positive hepatitis, Lancet, 1980, 1, 356-358
- 5- HOOFNAGLE JH, MULLEN KD, JONES DB, RUSTGI V, DI BISCEGLIE A, PETERS M, WAGGONER JG, PARK Y, JONES EA. Treatment of the chronic non A, non B hepatitis with the recombinant human alpha interferon. N Engl J Med, 1986, 315, 1575-1578
- 6- SALLIE R, TIBBS G, SILVA AE, et col. Detection of hepatitis E but not C in sera of patients with fulminant non A, non B hepatitis. Hepatology, 1991, 14 (Pt2) 68A
- 7- LIANG TJ, JEFFERS L, FINDOR A, et col. Lack of evidence for hepatitis C virus in non A, non B fulminant and late-onset hepatic failure, Hepatology, 1991, 14 (Pt2) 129A
- 8- ROUDOT-THORAVAL F, TUFFERY S, DEFORGE L, PAWLOTTSKY JM, SAINT MARC GIRARDIN MF, DHUMAUX D. Dépistage des hépatites C en médecine de ville par une demande orientée des transaminases. Association Française pour l'Etude du Foie (AFEF) 1993
- 9- GENASCA J. Interferon alpha in acute post-transfusion hepatitis C : a randomized, controlled trial. Réponse au commentaires. Gastroenterology, 1992, 103, 5, 1703
- 10- CAUSSE X, GODINOT H, CHEVALLIER M, et col. Comparison of 1 or 3 MU of interferon alpha-2b and placebo in patients with chronic non A, non B hepatitis. Gastroenterology, 1991, 101, 497-502
- 11- DAVIS GL, BALART LA, SCHIFF ER, et col. Treatment of chronic hepatitis C with recombinant interferon alpha. A multicenter randomized controlled trial. N Engl J Med, 1989, 321, 1501-6
- 12- DI BISCEGLIE AM, MARTIN P, KASSIANIDES D, et col. Recombinant interferon alpha therapy for chronic hepatitis C. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. N Engl J Med, 1989, 321, 1506-10

- 13- MARCELLIN P, BOYER N, GIOSTRA E, et col. Recombinant human alpha interferon in patients with chronic non A, non B hepatitis : a multi-center randomized controlled trial from France. *Hepatology*, 1991, 12, 393-7
- 14- SARACCO G, ROSINA F, TORRANI CERENZIA MR, et col. A randomied controlled trial of interferon alpha 2b as therapy for chronic non A, non B hepatitis. *J Hepatol*, 1990, 11 (suppl 1) S43-S49
- 15- FERENCI P, VOGEL W, PRISTAUZ H, et col. One year treatment of chronic non A, non B hepatitis with interferon alpha 2b *J Hepatol* 1990, 11 (suppl 1) S50-S51
- 16- REALDI G, DIODATI G, BONETTI P, et col Recombinant human interferon alpha-2a in community acquired non A, non B chronic active hepatitis. Preliminary results of a randomized controlled trial. *J Hepatol*, 1990, 11 (suppl 1) S68-S71
- 17- POUTEAU M, MARCELLIN P, BOYER N, DEGOTT C, MARTINOT M, BENHAMOU JP. Compraison d'un traitement par l'interféron alpha à dose constante et à dose croissante chez des malades atteints d'hépatite chronique non A, non B. Résultats préliminaires. *Gastroenterol Clin Biol*, 1991,15 (suppl 2 bis) A225
- 18- POYNART T, BEDOSSA P, MATHURIN P, et col. Efficacy of long term recombinant interfero-alpha in patients with chronic hepatitis C. A clinical, biological, histological and immunohistological study. *Gastroenterol Clin Biol*, 1991, 15, 615-619
- 19- CAMPS J, CASTILLA A, RUIZ J, CIVEIRA MP, PRIETO J. Randomized trial of lymphoblastoid alpha interferon in chronic hepatitis C: effects on inflammation, fibrogenesis and viremia. *J Hepatol*, 1992
- 20- CASTILLA A, PRIETO J, FAUSTO N. Transformin growth factors beta 1 and alpha in chronic liver disease. Effect of alpha interferon therapy. *N Engl J Med*, 1991, 324, 933-40
- 21- QIAN C, CAMPS J, CIVEIRA MP, MALUENDA MD, PRIETO J. Replication of hepatitis C virus (HCV) in peripheral blood mononuclear cells : effect of alpha interferon therapy. *EASL meeting*. Vienne 1992
- 22- LARREA E, QUIAN C, GARCIA N, CIVEIRA MP, PRIETO J. Opposite changes in the expression of transforming growth factor beta and tumour necrosis factor alpha during interferon alpha treatment in chronic hepatitis C. *EALS meeting*. Vienne 1992.
- 23- OMATA M, ITO Y, YOKOSUKA O, et col. Histological changes of the liver by treatment of chronic non A non B hepatitis with recombinant leucocyte interferon alpha. Comparison with histological changes in chronic hepatitis B. *Dig Dis Sci*, 1989, 34, 330-7
- 24- OUZAN D, SKAF R, ANDREANI T, et col. L'activité sérique de l'ALT après un mois de traitement est-elle le meilleur facteur prédictif de réponse à l'interféron alpha 2a dans l'hépatite chronique C ? Analyse multivariée chez 295 patients. *AFF meeting* 1993
- 25- TINE F, MAGRIN S, CRAXI A, PAGLIARO L. Interferon for non A, non B chronic hepatitis. A meta-analysis of randomized clinical trials. *J Hepatol*, 1991, 13, 192-9
- 26- OMATA M, YOSUKA O, TAKANO S, et col. Resolution of acute hepatitis C after therapy with natural beta interferon. *Lancet* 1991, 338, 914-5
- 27- ALBERTI A, CHEMELLO L, BENVEGNI L, et col. Pilot study of interferon alpha-2a therapy in preventing chonicevolution in acute hepatitis C. In Hollinger FB, Lemon SM, Margolis H (eds). *Viral Hepatitis and Liver Disease*. Baltimore, Williams & Wilkins. 1991 656-8
- 28- VILADOMIU L, GENESCA J, ESTEBAN JI, et col. Interferon-alpha in acute post-transfusion hepatitis C. A randomnized controlled trial. *Hepatology*, 1992, 15, 767-9
- 29- STOKES P, LOPEZ WC, BALART LA. Effects of short-term corticosteroid therapy in patients with chronic non A, non B hepatitis. *Gastroenterology*, 1987, 92, 1783
- 30- PAPAS SC, HOOFNAGLE JH, YOUNG N, STRAUS SE, JONES EA. Treatment of chronic non A, non B hepatitis with acyclovir : a pilot study. *J Med Virol*, 1984? 15, 1-9
- 31- DI BISCEGLIE AM, FONG TL, FRIED MW, et col. Ribavirin therapy for six months in patients with chronic hepatitis C. *Gastroenterology*, 1992, 100, A734
- 32- RICHARD O, ANDERSON J, SCHVARCZ R. WEILAND O. Ribavirin treatment for chronic hepatitis. *Lancet*, 1991, 337, 1058-61
- 33- BOUCHER E, et col Traitement de l'hépatite chronique C par l'association de l'interferon alpha et de l'acide urso-déoxycholique. 17ème Journée Francophone d'Hépatogastroentérologie 1993. 22-24 mai Nice.
- 34- BOTTELLI R, BELLATI G, ALBERTI A, et col. Alpha interferon vs interferon plus ursodeoxycholic acid in chronic hepatitis C : a controlled randomized trial. *Congrès International Tokyo* 1993

- 35- BOYER N, MARCELLIN P, et col. Effect of treatment by interferon alpha in patients with viaral hepatitis and infected by AIDS virus. J Infect Dis, 1992, 165, 723-6
- 36- DUSSAIX E, MAGGIORE G, DE GIACOMO C, et col. Autoimmune hepatitis in children and hepatitis C virus, testing Lancet, 1990, 335, 1160-1
- 37- LUNEL F, ABUAF N, FRANGEUL L, et col. Anti-liver/Kidney microsome antibody type 1 and hepatitis C virus infection. Hepatology, 1992, 16, 630-6
- 38- ABUAL N, LUNEL F, GIRAL P, BOROTTP E, LAPERCHE S, POUPON R, OPOLON P, HURAUX JM, HOMBERG JC. Non organ specific auto-antibodies associated to chronic C virus hepatitis. J Hepatol, à paraître.
- 39- AGNELLO V, CHUNG RT, KAPLAN LM. A role for hepatitis C virus infection in type II cryoglobulinemia. Lancet, 1992, 327, 1490-5
- 40- DOUTRELEPONT JM, ADLER M, WILLEM M, DUREZ P, YAP SH. Hepatitis C infection and membranoproliferative glomerulonephritis. Lancet, 1993, 341, 317
- 41- JOHNSON RJ, GRETCH DR, YAMABE H, et col. Membranoproliferative glomerulonephritis associated with hepatitis C virus infection. N Engl J Med, 1993, 328, 465-70
- 42- HERRERO C, VICENTE A, BRUGUERA M, et col. Is hepatitis C virus infection a trigger of porphyria cutanea tarda ? Lancet, 1993, 341, 788-9.
- 43- PAWLOTSKY JM. Virus C Int Symposium on viral hepatitis and liver disease. Tokyo, 10 au 14 mai 1993.
- 44- BIBAS M, ANDRIANI A. Hepatitis C virus and cryoglobulinemia. Lancet 1993, 1123, correspondance.





**RECHERCHE D'ANTICORPS IRREGULIERS  
ET  
INCOMPATIBILITES FŒTO-MATERNELLES**



# INCOMPATIBILITES FOETO-MATERNELLES ERYTHROCYTAIRES : ROLE DU BIOLOGISTE

Y BROSSARD, V. de LACHAUX

CAHIER  
DE  
**Formation**  
version numérique

## INTRODUCTION

La fixation d'anticorps IgG maternels sur les globules rouges fœtaux (incompatibilité foeto-maternelle érythrocytaire : IFM) s'accompagne parfois d'une immuno-hémolyse pathogène pour le fœtus et le nouveau-né (maladie hémolytique périnatale). Deux dangers guettent alors l'enfant : **L'anémie et l'ictère hémolytique**. L'anémie apparaît parfois dès le 4ème mois de vie intra-utérine et lorsqu'elle devient profonde conduit spontanément à la mort fœtale après une période plus au moins prolongée d'anasarque foeto-placentaire. L'ictère hémolytique n'apparaît qu'après la naissance, souvent dès le premier jour de vie. Son intensité prend parfois une proportion telle que le nouveau-né risque une encéphalopathie toxique (bilirubine libre), mortelle ou à l'origine de séquelles graves : **L'ictère nucléaire**. Ces deux complications peuvent être évitées grâce à certains traitements in utero et ex utero, d'où l'importance de reconnaître sans retard toutes les situations à risques.

A l'origine des IFM se trouvent les allo-immunisations anti-érythrocytaires maternelles. Certaines sont inévitables (allo-immunisation anti-A, anti-B). D'autres peuvent être prévenues : En prenant soin de ne transfuser que du sang phénotypiquement compatible (D, c, Kell) aux fillettes et femmes en âge de procréer et surtout en portant une attention sans faille à l'application de l'immunoprophylaxie par immunoglobulines anti-D chez les femmes enceintes Rh négatif. L'allo-immunisation anti-D reste encore en effet, et de très loin, la première cause d'anémie fœtale sévère par IFM.

La biologie tient ici un rôle clef, dans le dépistage des IFM et la prévention des allo-immunisations.

## I.

### A - Durant la grossesse, deux points sont essentiels :

1 - Faire respecter rigoureusement le calendrier de prescription des recherches d'agglutinines irrégulières (RAI) pendant la grossesse. Ce calendrier réglementaire est présenté dans la figure 1, il tient compte du Rhésus de la femme et de la notion de transfusions antérieures.

2 - Ne pas faillir dans la détection d'une agglutinine irrégulière, surtout lors de la recherche effectuée à l'occasion de la première consultation prénatale.

On trouve fréquemment des agglutinines dans le sérum des femmes enceintes. Leur identification est primordiale pour reconnaître les patientes à risque d'IFM. Très souvent l'anticorps ne présente pas de risque : Anti-Lewis, anti-P1, auto- anticorps, anti-HI, etc.

Parfois le risque est présent mais limité à l'éventualité d'un ictère hémolytique néonatal : Anti-E, anti-Fya, anti-S, anti-Cw...L'anticorps enfin peut représenter un risque à la fois pré et postnatal, c'est le cas de l'anti-D de l'anti-"petit c" et de l'anti-Kell. Une fois le risque reconnu, il reste à le préciser.

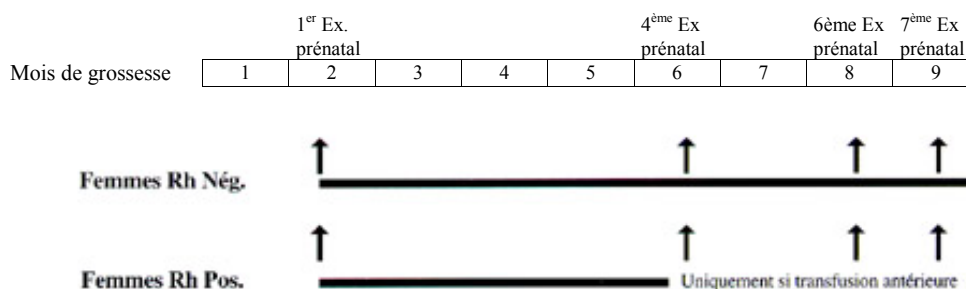


Fig. 1 – Les recherches d'agglutinines irrégulières obligatoires au cours de la grossesse (Décret 92-143 du 14/2/92)

## B - Préciser le risque.

Seul le procréateur peut transmettre à l'enfant l'antigène incompatible, le phénotypage érythrocytaire est donc, chez lui, capital. S'il est phéno-incompatible, il faut doser l'anticorps maternel pour juger de l'importance du risque (titrage en Coombs indirect normal associé au dosage pondéral si anti-D, anti "petit c" ou anti-E sont en cause). Pour l'anti-D un risque d'anémie fœtale sévère n'est présent qu'à partir d'une concentration de 0,8 µg/mL (200 Unités CHP/mL) et d'un titre (en Coombs indirect normal à 37°C) égal ou supérieur à 1/16.

## C - Un écueil à éviter : Le relâchement de la surveillance.

Les allo-immunisations D, E et Kell peuvent se réactiver de manière massive et imprévisible à n'importe quel moment de la grossesse. Le respect d'une périodicité rigoureuse des dosages (toutes les 2 à 3 semaines pour l'anti-D) est le seul moyen de détecter cette éventualité et d'aboutir, en quelques semaines, à une mort fœtale évitable par transfusion fœtale in utero ou déclenchement de l'accouchement avant le terme naturel.

## D - Un cas fréquent : L'anti-D passif.

Les femmes Rh négatif reçoivent parfois des injections d'immunoglobulines anti-D pour prévenir un risque d'immunisation pendant la grossesse (pour une amniocentèse par exemple). Ces immunoglobulines contiennent des IgG anti-D qui se comportent, à l'examen du sérum de ces patientes, comme des agglutinines anti-D. Deux erreurs d'interprétation sont dans ce cas à éviter :

- Conclure à un anti-D d'immunisation, si l'on n'est pas informé d'une injection d'anti-D, et risquer d'inquiéter inutilement la patiente.

- Ne pas conclure à un anti-D d'immunisation, si le statut de la patiente avant injection était ignoré ou mal diagnostiqué. C'est le risque de laisser évoluer une immunisation pouvant se révéler plus tard par une souffrance ou une mort fœtale.

Dans l'immense majorité des cas le dosage de l'anti-D pourra permettre de se prononcer. En effet l'injection de 100µg d'anti-D se traduit par une concentration en anti-D inférieure à 0,05 µg/mL (titre inférieur ou égal au 1/4 en Coombs indirect normal à 37°C).

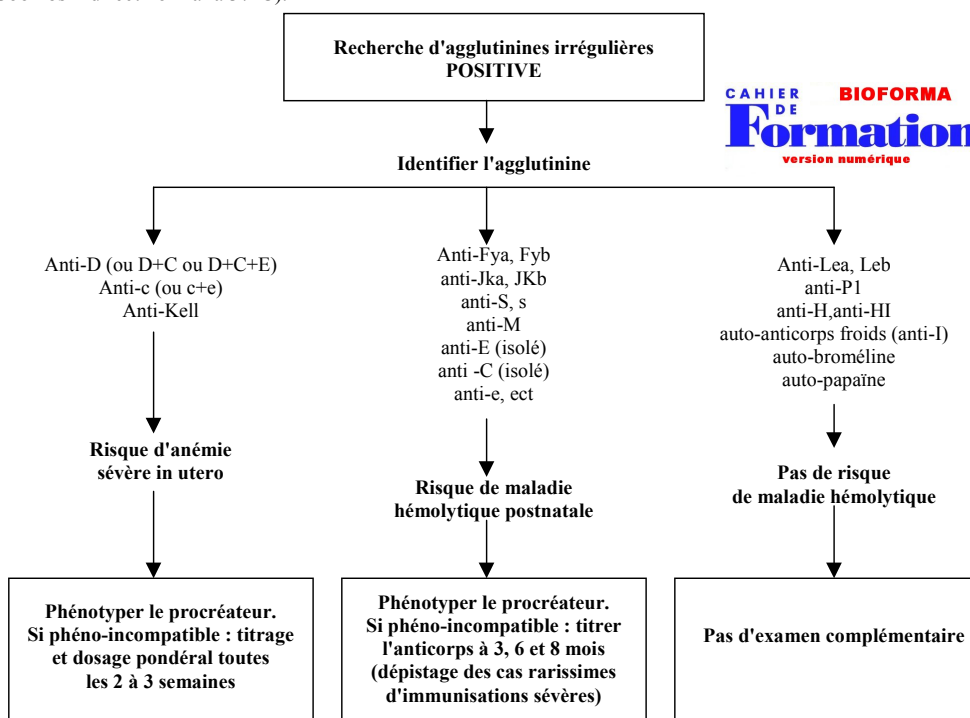


Fig. 2 – Dépistage et surveillance des IFM cours de la grossesse.

## II. DIAGNOSTIC D'IFM À LA NAISSANCE

L'examen du sang de cordon, dès la naissance, est à faire en urgence dans tous les cas où l'IFM est connue pendant la grossesse. L'existence d'un test de Coombs direct positif chez le nouveau-né témoigne d'une IFM potentiellement pathogène. Il faut dans ce cas réaliser immédiatement un hémogramme et un dosage de bilirubine. Par la suite, une bonne prise en charge de l'ictère hémolytique dépend de la fiabilité du dosage de bilirubine (qualité du prélèvement sanguin, calibrage avec sérum de contrôle à concentration élevée en bilirubine). Les dosages de bilirubine libre non liée à l'albumine (BNL) et de la bilirubine érythrocytaire (BIE) sont à réserver aux laboratoires spécialisés.

L'IFM ABO est à évoquer devant tout ictère néonatal chez un enfant A ou B de mère O. Le diagnostic d'incompatibilité ABO peut poser problème car, en dépit d'un ictère hémolytique évident, le test de Coombs direct est parfois négatif. Seule l'élution permet alors de conclure. Le titrage des anticorps IgG immuns chez la mère n'a que peu de valeur diagnostique. Ce dernier examen est inutile durant la grossesse car l'incompatibilité ABO ne met pas en jeu le pronostic fœtal.

## III. IMMUNOPROPHYLAXIE RH.

L'attention du biologiste doit être centrée sur la prévention du risque d'immunisation chez les femmes Rh négatif. S'il en a la possibilité, il doit contribuer à l'information des patientes sur l'importance de cette prévention dans les circonstances où elle est encore parfois oubliée (I.V.G., fausses-couches spontanées, amniocentèse).

En ce qui concerne l'immunoprophylaxie du post-partum, deux situations sont à distinguer :

**A - Le nouveau-né est Rh D négatif.** Il est alors prudent de vérifier le rhésus de l'enfant sur un second prélèvement. Si la négativité se confirme, l'injection d'immunoglobuline anti-D à la mère est inutile.

**B - Le nouveau-né est Rh D positif.** Quelques notions essentielles sont à préciser.

- La femme Rh négatif venant d'accoucher d'un enfant Rh positif est candidate à l'immunoprophylaxie Rh dans tous les cas sauf si elle a déjà développé une immunisation active anti-D. Dans ce cas les Ig anti-D sont sans effet mais sans danger.

- Il faut s'assurer, par un test de Kleihauer, que la dose standard d'anti-D (100 µg) sera suffisante. Ce test peut être négatif, ce qui ne permet, en aucun cas, de s'abstenir de l'injection d'immunoglobulines anti-D. Il n'est que très rarement positif au-delà de 5 hématies fœtales pour 10 000 hématies maternelles, mais dans ce cas la patiente présente un très gros risque d'immunisation si elle ne reçoit qu'une dose d'Ig anti-D. Il faut augmenter la dose de 100 µg par tranche de 20 hématies fœtales pour 10 000 hématies maternelles. Soit 2 doses de 100 µg pour une hémorragie foeto-maternelle comprise entre 6 & 25/10 000, 3 doses de 100 µg pour une hémorragie foeto-maternelle comprise entre 26 & 45/10 000 etc....

Un nouveau test de Kleihauer 24 à 48 heures après l'injection permettra de s'assurer que toutes les hématies fœtales ont bien disparu. En effet la présence d'un anti-D passif 24 h après l'injection témoigne que celle-ci a bien été faite mais ne signifie en aucune façon que la posologie utilisée était suffisante.

Il est enfin essentiel de rappeler au service clinique que le prélèvement pour test de Kleihauer ne doit être fait qu'après la délivrance.

## CONCLUSION

En France l'application du programme de surveillance des IFM et de prévention des allo-immunisations repose sur un réseau complexe de praticiens et de laboratoires, privés et publics. Les performances de ce réseau se sont sensiblement améliorées au cours de ces dernières années mais chacun, biologiste ou clinicien, doit chercher à le rendre encore plus efficace.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Une revue générale avec les principales références bibliographiques concernant ce sujet pourra être trouvée dans l'article "Incompatibilité foeto-maternelle érythrocytaire" par Y. Brossard, M.H. Poissonnier, J. Chavinié - p 333-372. in "Immunologie de la reproduction" - 1990 - Edition Flammarion (Médecine-Sciences).



## ANTI-S : CARACTERISTIQUES SEROLOGIQUES ET SIGNIFICATION CLINIQUE

Y. BROSSARD

*En France, environ 45% des personnes n'ont pas d'antigène S sur leurs globules rouges (sujets S négatifs), mais moins de 1 sur 1000 d'entre elles ont dans leur sérum un allo-anticorps anti-S. L'anti-S est donc un anticorps rare, parfois "naturel", mais le plus souvent "immun", faisant suite à des transfusions et plus rarement une hémorragie foeto-maternelle. Dans le sérum, L'anti-S peut être seul, comme dans l'échantillon 93 M9, mais plus fréquemment il accompagne d'autres allo-anticorps majeurs (anti-D, anti-Kell...) généralement apparus avant lui, ce qui peut compliquer sa détection.*

*Les anti-S ont souvent un titre faible et une affinité modeste pour l'antigène S et ce dernier est absent des hématies-tests pré-traitées par la broméline, la ficine ou la papaïne. Ces trois particularités expliquent la difficulté à déceler certains anti-S si on ne prend pas la précaution d'utiliser a) - une technique sensible : test à l'antiglobuline ou au polybrène en basse force ionique, associé à un système d'agglutination performant b) - des hématies-tests, si possible homozygotes (S+ s-) n'ayant pas subi de traitement par les protéases citées plus haut.*

*L'intérêt de reconnaître un anti-S est évident. Cet anticorps a en effet été impliqué dans des accidents graves d'incompatibilité transfusionnelle, d'où l'importance de sa mention sur la carte personnelle de groupe sanguin des patients chez qui on l'a identifié. L'anti-S peut entraîner un ictère hémolytique néonatal chez un enfant S positif dans la mère a développé ou amplifié une immunisation anti-S en cas de grossesse. Un point rassurant toutefois : l'incompatibilité foeto-maternelle S ne génère pas d'anémie fœtale sévère. En pratique, la découverte d'un anti-S en cours de grossesse doit conduire à demander le phénotype S du géniteur. Si ce dernier est S positif, il suffit alors de titrer l'anticorps maternel en début de grossesse et au terme de 8 mois, mais surtout il est indispensable d'effectuer dès la naissance un bilan d'incompatibilité sur le sang du cordon : test de Coombs direct et phénotype S et, en cas de positivité, un dosage d'hémoglobine et de bilirubine.*





**PLACE DES EXAMENS BIOLOGIQUES  
DANS LA SURVEILLANCE DE LA GROSSESSE**



# SURVEILLANCE DE LA GROSSESSE ET PLACE DES EXAMENS BIOLOGIQUES

M. TOURNAIRE

*La surveillance de la grossesse occupe une place à part en médecine car elle entre le plus souvent dans le cadre de la médecine préventive. Devant ce phénomène physiologique, il convient de rechercher systématiquement des risques, à partir des antécédents, des signes cliniques échographiques ou biologiques : par exemple, menace d'accouchement prématuré devant une ouverture du col utérin ou risque d'immunisation chez une femme rhésus négatif. Dans certains cas cependant, il s'agit d'une véritable pathologie, par exemple d'une listériose découverte à l'occasion d'une fièvre intense.*

*Pour situer les examens biologiques dans le cadre de la surveillance de la grossesse, nous voudrions répondre à quelques questions :*

- 1 - Quelle est la situation de la mortalité périnatale en France et à l'étranger ?*
- 2 - Quels sont les buts de la surveillance de la grossesse ?*
- 3 - Quels sont les moyens de surveillance cliniques et paracliniques ?*
- 4 - Quel est l'apport des examens biologiques en cours de grossesse ?*
- 5 - Quelles sont les modifications physiologiques de certaines constantes ?*

## I. MORTALITE PÉRINATALE EN FRANCE ET À L'ETRANGER

Les accidents maternels graves étant devenus peu nombreux, l'attention se porte surtout depuis 25 ans, sur l'enfant. Le critère le plus fiable d'apprécier la qualité de sa prise en charge est la mortalité périnatale.

La mortalité périnatale comprend, selon les recommandations de l'OMS, la mortalité prénatale à partir de 22 semaines d'aménorrhée (4 mois 1/2 à partir de la fécondation) ou 500 g, et la mortalité néonatale précoce (de 0 à 6 jours révolus) ou tardive (de 7 à 27 jours révolus).

Au début des années 70 a eu lieu en France une prise de conscience du retard relatif dans ce domaine. Un certain nombre d'actions ont été entreprises dont la définition de normes en matériel et personnel pour les maternités et l'amélioration de la surveillance de la grossesse.

Un progrès rapide a permis de rattraper puis dépasser un certain nombre de pays européens en passant d'une mortalité périnatale de 23,3 pour mille en 1970 à 8,2 pour mille en 1991 (Tableau I). La France se situe au sixième rang de treize pays d'Europe (fig. 1).

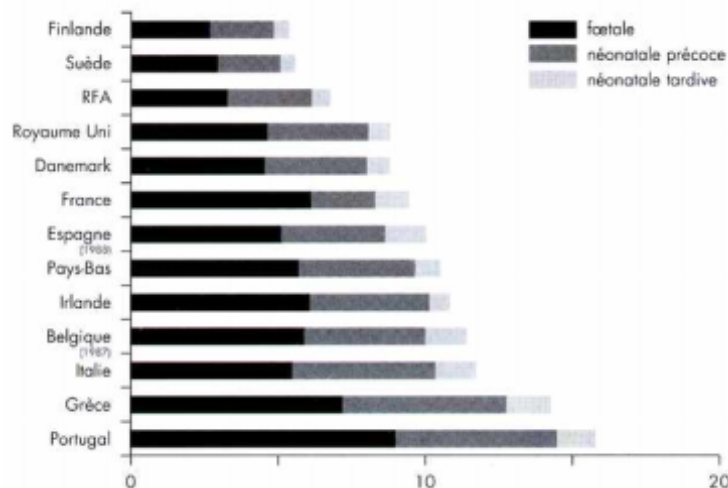
**Tableau I : Mortalité en France de 1955 à 1991**

	<b>Mortalité (1)</b>	<b>Mortalité périnatale (1)</b>	<b>Mortalité (2)</b>
1955	17,1	33,4	20,8
1960	16,9	31,3	17,6
1965	15,1	27,7	15,2
1970	13,3	23,3	12,6
1975	10,9	18,1	9,2
1980	8,6	12,9	5,8
1985	7,3	10,7	4,6
1990	5,9	8,3	3,6
1991	5,7	8,2	3,5

(1) : Taux pour 1000 naissances vivantes et sans vie

(2) : Taux pour 1000 naissances vivantes

Source : INSEE



1 Mortalité dans les pays de la CEE, en Finlande et en Suède en 1990  
(source : Eurostat [17], Nomesko [27])

Figure 1

## II. BUTS DE LA SURVEILLANCE DE LA GROSSESSE

La surveillance doit prendre en charge les accidents de début de grossesse, grossesse extra-utérine et avortements spontanés dont le taux est de 15 % au premier trimestre, liés en majorité à des anomalies chromosomiques majeures qui entraînent à un arrêt d'évolution de la grossesse.

Le but principal de la surveillance de la grossesse est la réduction de la mortalité et bien sûr de la morbidité périnatale par le dépistage des principales causes d'accidents :

- 1 - La prématurité
- 2 - les malformations
- 3 - Certaines anomalies survenant en cours de grossesse, l'hypertension artérielle, l'hypotrophie (fœtus de faible poids pour son âge, en pratique moins de 2500 grammes à terme), le diabète, l'iso-immunisation materno-fœtale, le dépassement de terme.
- 4 - Les infections, en particulier rubéole, toxoplasmose, VIH, listériose, infections urinaires

### Grossesse à risque

La notion de grossesse à risque datant du début des années 70, a eu le mérite d'attirer l'attention sur la surveillance de la grossesse. Une grossesse est à risque surtout en raison des antécédents tels que hypertension, malformation dans la fratrie. Mais il s'avère qu'une très large proportion des accidents se produit au cours d'une grossesse jusque là normale. La prématurité en est un bon exemple. Il n'y a donc pas de grossesse "sans risque". Ainsi, toute grossesse doit bénéficier de consultations mensuelles au cours desquelles des points précis doivent être contrôlés par la clinique et les examens complémentaires prévus.

## III MOYENS DE SURVEILLANCE DE LA GROSSESSE

### Diagnostic de grossesse

Le diagnostic de grossesse peut se faire sur les arguments cliniques habituels d'aménorrhée et d'augmentation de volume de l'utérus.

En cas de doute, mais en réalité, souvent à l'initiative de la patiente, le diagnostic est biologique.

Le diagnostic simple par recherche des HCG dans les urines ou le sang au laboratoire devrait suffire le plus souvent. Le test fait "à la maison" a un taux élevé de faux négatifs, faux positifs et "douteux".

Le dosage des HCG est indiqué dans certains cas particuliers tels que la nécessité de diagnostic très précoce de

grossesse, la suspicion de grossesse extra-utérine, l'évaluation de l'évolutivité de la grossesse avant l'heure de l'échographie, c'est-à-dire avant la 7<sup>ème</sup> semaine d'aménorrhée.  
L'échographie n'est pas le moyen de diagnostic précoce adéquat. Elle peut méconnaître une grossesse au tout début.

### **Consultations de surveillance**

La surveillance de la grossesse est prévue de façon détaillée par le décret du 14 février 1992:

"Les examens médicaux obligatoires des femmes enceintes sont au nombre de sept pour une grossesse évoluant jusqu'à son terme.

Le premier examen médical prénatal doit avoir lieu avant la fin du troisième mois de grossesse. Les autres examens doivent avoir une périodicité mensuelle à partir du premier jour du quatrième mois et jusqu'à l'accouchement,"

Au cours des consultations, particulièrement lors de la première consultation, il faut rechercher des facteurs de risque par une enquête détaillée portant sur:

- les données générales, âges, conditions socio-économiques, obésité, tabac, alcool,
- les antécédents médicaux: hypertension artérielle, diabète, transfusion,
- les antécédents gynécologiques : notion de béance de l'isthme, exposition au Distilbène in utero,
- les antécédents obstétricaux, d'avortements, surtout tardifs, d'accouchement prématuré, d'hypotrophie, de gros enfant (plus de 4000 g), de difficultés lors de l'accouchement ou de césarienne,
- les antécédents familiaux de diabète et de maladie transmissible.

Certains signes fonctionnels sont recherchés systématiquement : perception des mouvements de l'enfant à partir de quatre mois pleins, contractions utérines, pertes de sang.

La tension artérielle et le poids sont notés.

L'examen clinique comporte l'évaluation du volume de l'utérus, l'écoute des bruits du cœur fœtal, la recherche d'une ouverture anormale du col utérin.

### **Apport de l'échographie**

Un point très complet sur l'échographie en obstétrique a été fait au cours d'une conférence de consensus organisée par le Collège National des Gynécologues et Obstétriciens Français dont nous reprendrons les conclusions.

La valeur diagnostique de l'échographie est établie pour les objectifs suivants :

- apprécier l'évolutivité de la grossesse à partir de 6 semaines,
- estimer l'âge de la grossesse à condition que l'examen soit assez précoce pour fournir un intervalle de précision acceptable (de l'ordre de + ou - 3 jours vers 12 semaines à plus ou moins 7 jours vers 20 semaines, précision insuffisante au delà de 24 semaines),
- diagnostiquer précocement la grossesse multiple,
- localiser le placenta (ce qui n'a d'intérêt qu'à partir du deuxième trimestre),
- aider au diagnostic de grossesse extra-utérine,
- aider au diagnostic d'hypotrophie,
- reconnaître le sexe de l'enfant, ce qui n'a que rarement une indication médicale,
- reconnaître des malformations généralement incompatibles avec la vie vers 20 semaines.

Cependant le taux de dépistage à l'échographie systématique varie selon les études de 14 à 52%. La sensibilité est supérieure lorsque l'échographie est faite sur indication, par exemple recherche d'un spina bifida lorsqu'un enfant est atteint dans la fratrie.

En fonction de ces données, il faut distinguer échographie systématique et sur indication.

### **Echographie systématique**

La recommandation de la conférence de consensus est la suivante : "Au cours d'une grossesse d'évolution normale et sans facteur de risque connu, le jury juge raisonnable et suffisant de conseiller deux échographies systématiques par grossesse respectivement vers 4 mois, soit entre 19 et 21 semaines et vers 7 mois, soit entre 31 et 33 semaines".

Les arguments pour la première échographie sont : une évolution acceptable de l'âge de la grossesse, le dépistage des principales malformations graves, le diagnostic de grossesse multiple à une date suffisamment précoce pour que la prise en charge médico-sociale soit efficace.

Les arguments pour la deuxième échographie sont : le dépistage d'hypotrophie ou macrosomie fœtales qui pourraient avoir échappé à l'examen clinique, la reconnaissance des diverses malformations à révélation tardive, ce qui peut permettre d'organiser à l'avance la prise en charge pédiatrique et chirurgicale de l'enfant, le contrôle du siège du placenta.

Les critiques de ces conclusions ont porté principalement sur une échographie systématique supplémentaire au premier trimestre. Les arguments médicaux pour cette échographie concernent surtout la datation plus précise de la grossesse et la découverte plus précoce de grossesse gémellaire.

En pratique, en France, sont faites deux ou trois échographies systématiques. On peut rappeler que la conférence de consensus américaine en 1984 avait conclu qu'il n'y avait pas d'indication pour une échographie systématique et, à ce jour, l'échographie n'est pas systématique aux Etats-Unis, mais elle est assez souvent pratiquée vers 20 semaines. Dans la plupart des pays tels que pays scandinaves et Grande-Bretagne, une échographie systématique seulement est conseillée vers 18/22 semaines.

### ***Echographies sur indications***

En cas de risque ou de pathologie de la grossesse, l'échographie apporte des indications essentielles pour les décisions médicales.

En cas de métrorragies de début de grossesse, outre l'aide, imparfaite, au diagnostic de grossesse extra-utérin, elle est le seul examen capable de différencier clairement une grossesse évolutive d'une rétention d'œuf mort. En cas d'hypotrophie, l'échographie permet d'apprécier son degré et son évolution.

Pour les grossesses multiples, des échographies répétées toutes les 2 ou 3 semaines permettent d'évaluer la vitalité et la croissance des fœtus.

Enfin, l'échographie apporte une aide irremplaçable aux gestes instrumentaux intra-utérins explorateurs ou thérapeutiques tels qu'amniocentèse, biopsie de villosités chorionales, prélèvement de sang fœtal, transfusion ou exsanguino-transfusion in utero.

### ***Doppler***

Les mesures utilisant l'effet doppler peuvent aider au dépistage et à la surveillance du fœtus en cas d'hypotrophie.

Les mesures de vélocimétrie sont possibles dans les vaisseaux du cordon, de l'utérus et dans la circulation fœtale, en particulier cérébrale.

## **IV. APPORT DES EXAMENS BIOLOGIQUES EN COURS DE GROSSESSE**

---

### **Examens obligatoires**

Le décret de 1992 précise les examens obligatoires:

"Chaque examen (mensuel) doit comporter un examen clinique, une recherche de l'albuminurie et de la glycosurie. De plus, sont effectués :

#### ***1 - Lors du premier examen prénatal:***

a) En cas de première grossesse, une détermination des groupes sanguins (A, B, O, phénotypes, rhésus complet et Kell) si la patiente ne possède pas de carte de groupe sanguin complète (deux déterminations) ;

b) Dans tous les cas, les dépistages de la syphilis, de la rubéole et de la toxoplasmose en l'absence de résultats écrits permettant de considérer l'immunité comme acquise, ainsi que la recherche d'anticorps irréguliers, à l'exclusion des anticorps dirigés contre les antigènes A. et B, si la recherche est positive, l'identification et le tirage des anticorps sont obligatoires;

**2 - Au cours du quatrième examen prénatal** (sixième mois de grossesse), un dépistage de l'antigène HBs, une numération globulaire et chez les femmes à rhésus négatif ou précédemment transfusées, la recherche d'anticorps irréguliers à l'exclusion des anticorps dirigés contre les antigènes A et B ; si la recherche est positive l'identification et le tirage des anticorps sont obligatoires ;

**3 - Au cours du sixième ou du septième examen prénatal** (huitième ou neuvième mois de grossesse), une deuxième détermination du groupe sanguin A, B, O, rhésus standard si nécessaire;

**4 - Au cours des sixième et septième examens prénataux** (huitième et neuvième mois de grossesse), chez les femmes à rhésus négatifs ou précédemment transfusées, la recherche d'anticorps irréguliers, à l'exclusion des anticorps dirigés contre les antigènes A et B ; si la recherche est positive, l'identification et le titrage des anticorps sont obligatoires.

En outre, la sérologie toxoplasmique sera répétée chaque mois à partir du deuxième examen prénatal si l'immunité n'est pas acquise".

Notons que si le dépistage VIH n'est pas précisé dans cette liste, il est le plus souvent proposé en début de grossesse.

**Caryotype fœtal**: un arrêté du 29/02/91 inscrit le caryotype fœtal à la nomenclature dans certaines conditions :

"Le caryotype fœtal est remboursable en présence de l'une des indications suivantes :

- 1 - Age de la femme supérieur ou égal à trente-huit ans à la date du prélèvement
- 2 - Anomalies chromosomiques parentales ;
- 3 - Antécédent pour le couple, de grossesse(s) avec caryotype anormal
- 4 - Diagnostic du sexe pour les maladies liées au sexe;
- 5 - Signes d'appel échographiques suivants : anomalies morphologiques du fœtus démontrées, internes ou externes, retard de croissance intra-utérin avéré, anomalies de quantité du liquide amniotique ;

Le motif de la prescription doit être indiqué par le prescripteur sur la demande d'entente préalable ;

Pour les indications prévues au 5 ci-dessus, le compte-rendu de l'examen échographique est joint à la demande d'entente préalable".

### **Marqueurs biologiques de trisomie 21**

On a découvert que les taux plasmatiques maternels d'alphafœtoprotéine, d'estradiol et surtout d'HCG étaient sensiblement différents en cas de trisomie 21. Les dosages des HCG et de l'alpha-fœtoprotéine sont les plus employés pour ce dépistage biologique. Pour que ces paramètres aient toute leur valeur, il faut respecter des conditions bien précises :

- prélèvement entre 15 et 18 semaines,
- terme précis, vérifié par échographie,
- dosage effectué avec une méthode particulière pour obtenir la précision requise,
- accord d'un laboratoire de cytogénétique pour pratiquer le caryotype s'il est indiqué.

Actuellement, seuls quelques laboratoires remplissent ces conditions.

Les résultats du dosage doivent être interprétés en fonction de l'âge et donnés en taux de risque : par exemple, les risques moyens de trisomie 21 à l'âge de 35 ans est de l'ordre de 1 sur 300. Si les résultats sont défavorables lorsque le risque atteint 1 %, il est identique à celui d'une femme de 38 ans. Un caryotype fœtal est donc logiquement identique. Notons qu'à cette date (novembre 93) la prise en charge du caryotype fœtal n'est pas encore accordée dans cette indication.

### **Examens indiqués dans certaines circonstances**

- 1 - Cytobactériologie urinaire (en cas de dysurie, fièvre, menace d'accouchement prématuré).
- 2 - Bactériologie vaginale en cas de signes fonctionnels évoquant une infection, ou de menace d'accouchement prématuré. Il peut être demandé en fin de grossesse à titre systématique à la recherche du streptocoque B pour prévenir une transmission lors de la naissance.
- 3 - Recherche de listériose par hémoculture en cas de fièvre intense.
- 4 - Glycémie après charge en glucose (un diabète peut être responsable de mort in utéro).
- 5 - Uricémie pour aider au diagnostic de toxémie.
- 6 - Alphafœtoprotéine plasmatique maternelle. Elle est peu utilisée en France alors qu'elle est systématique dans certains pays comme la Grande-Bretagne dans le dépistage du spina bifida (dans ce cas, le taux est élevé alors qu'il est abaissé statistiquement pour la trisomie 21).
- 7 - Bilan de coagulation : il est souvent demandé en fin de grossesse pour permettre une analgésie péridurale.

## V. MODIFICATIONS PHYSIOLOGIQUES DE CERTAINES CONSTANTES BIOLOGIQUES EN COURS DE GROSSESSE

---

Le volume plasmatique subit une importante augmentation. La masse globulaire augmente mais en proportion moindre. Cette hémodilution explique l'abaissement de l'hématocrite, du nombre d'érythrocytes et du taux d'hémoglobine. L'OMS fixe à 11 g/l le seuil pathologique.

Il existe une hyperleucocytose avec en moyenne 9400 GB au premier trimestre, 10700 au deuxième et 10300 au troisième. Cependant, les limites supérieures peuvent atteindre 16000. Devant de telles variations, la formule sanguine est ininterprétable et on ne doit pas considérer l'hyperleucocytose physiologique comme un signe d'infection.

De la même façon, la vitesse de sédimentation est augmentée de façon très variable, elle n'est donc pas utilisable en cours de grossesse.

En conclusion, la biologie occupe une place majeure dans la surveillance de la grossesse et constitue souvent l'unique moyen de dépister des risques graves tels qu'une iso-immunisation rhésus, une hépatite B ou une séropositivité VIH.

C'est souligner l'importance de la qualité de ces examens.

## BIBLIOGRAPHIE

---

- 1- **BLANC B.J., HAGHER J.P., BOUBIL L., RUF H.** Les constantes biologiques au cours de la grossesse. Encyclopédie médico-chirurgicale. Obstétric. 5010 1 10, 3-1988.
- 2- **TOURNAIRE M.** Physiologie de la grossesse. Masson Paris, 199
- 3- **TOURNAIRE M., BREART G., PAPIERNIK E., DELECOUR M.** Apport de l'échographie en obstétrique. Collège National des Gynécologues et Obstétriciens Français. Diffusion Vigot Paris, 1987.
- 4- **VOKAER R., BARRAT J. BOSSART H., LEWIN B., RENAUD R.** Traité d'Obstétrique Masson Paris, Tome I, 1980



<b>LISTES DES AUTEURS</b> .....	p.	1
<b>EDITORIAL : Alain F. Goguel</b> .....	p.	3
<b>HEMOSTASE</b>		
- Temps de Quick 94 B3, B4 : résultats des participants.....	p.	8
- Temps de Céphaline + activateur 94 B3, B4 : résultats des participants.....	p.	9
- TCA "mélange B3 + témoin" : résultats des participants.....	p.	10
- Tests de confirmation d'un ACC : résultats des participants.....	p.	11
- Compréhension du questionnaire.....	p.	13
- Choix du réactif céphaline selon le but du test.....	p.	13
- Commentaires sur les résultats des participants :		
dépistage et confirmation d'un ACC : J. Roussi et A.F. Goguel.....	p.	15
- Anticoagulants circulants de type lupique : le point de vue du biologiste : J. Roussi.....	p.	19
- Le diagnostic biologique des anticoagulants circulants de type lupique en 1994 : P Sié.....	p.	25
- Intérêt de la recherche des anticorps antiphospholipides : le point de vue du clinicien:		
J.C. Piette.....	p.	31
- Antiphospholipides et grossesse : A. Gompel.....	p.	33
- Enquête AT III sur le plasma 94 B4.....	p.	35
- Antithrombine III sur l'échantillon B4: résultats des participants.....	p.	35
- Quand doser l'antithrombine ? : L. Houbouyan.....	p.	37
- Quelle attitude thérapeutique peut-on adopter en cas de déficit ? : L. Houbouyan.....	p.	37
- Antithrombine III ou antithrombine : M. Aiach.....	p.	39
<b>HÉPATITES VIRALES</b>		
- Marqueurs sérologiques de l'hépatite B sur l'échantillon 94 B5:		
résultats des participants.....	p.	43
- Marqueurs sérologiques de l'hépatite C sur l'échantillon 94 B5:		
résultats des participants.....	p.	44
- Hépatites virales et femmes enceintes : F. Denis.....	p.	45
- Virus de l'hépatite B et femmes enceintes : F. Denis et S. Rogez-Ranger.....	p.	47
- Virus de l'hépatite C et femmes enceintes : F. Denis et P. Martin.....	p.	55
- Virus de l'hépatite A et femmes enceintes : F. Denis.....	p.	59
- Virus de l'hépatite E et femmes enceintes : F. Denis.....	p.	63
- Rétrovirus et femmes enceintes : F. Denis.....	p.	65
- Transmission mère-enfant des virus du SIDA : F. Denis.....	p.	67
- Transmission mère-enfant des virus HTLV : F. Denis.....	p.	73
- Infection par le virus de l'hépatite B : épidémiologie, histoire naturelle et traitement :		
G. Lesur et P. Dupuy.....	p.	77
- Hépatite virale à virus C : P Dupuy et G. Lesur.....	p.	85
<b>RECHERCHE D'ANTICORPS IRRÉGULIERS</b>		
- Incompatibilités fœto-maternelles érythrocytaires : rôle du biologiste :		
Y. Brossard et V. de Lachaux.....	p.	95
- Anti-S : caractéristiques sérologiques et signification clinique : Y. Brossard.....	p.	99
<b>PLACE DES EXAMENS BIOLOGIQUES</b>		
<b>DANS LA SURVEILLANCE DE LA GROSSESSE</b>		
- Surveillance de la grossesse et place des examens biologiques : M. Tournaire.....	p.	103
<b>SOMMAIRE</b> .....	p.	109

# CAHIER DE **Formation** Biologie médicale

## *Cahiers de formation déjà parus*

- |  |  |
|--|--|
| N° 1 : <i>HÉMATOLOGIE</i>                                | N° 15 : <i>DÉPISTAGE</i>   |
| N° 2 : <i>IMMUNOANALYSE</i>                              | <i>DE LA TRISOMIE 21</i>   |
| N° 3 : <i>PARASITOLOGIE</i>                              | N° 16 : <i>IMMUNO-ALLERGIE (2)</i>   |
| N° 4 : <i>BACTÉRIOLOGIE</i>                              | N° 17 : <i>VIRUS DES HÉPATITES</i>   |
| N° 5 : <i>HORMONOLOGIE</i><br><i>GAZOMÉTRIE</i>          | <i>A (VHA) et E (VHE)</i>  |
| N° 6 : <i>G.B.E.A.</i>                                   | N° 18 : <i>DOSAGE DES MÉDICAMENTS</i>  |
| N° 7 : <i>IMMUNO-ALLERGIE (1)</i>                        | <i>TOME II</i>   |
| N° 8 : <i>HÉMOGLOBINES GLYQUÉES</i><br><i>LIPIDES</i>    | N° 19 : <i>VAGINITES ET VAGINOSES</i>  |
| N° 9 : <i>DOSAGE DES MÉDICAMENTS</i><br><i>TOME I</i>    | N° 20 : <i>HÉMOSTASE ET THROMBOSE</i>  |
| N° 10 : <i>HÉMATOLOGIE</i><br><i>CAS ILLUSTRÉS</i>       | N° 21 : <i>VIRUS DES HÉPATITES</i><br><i>B (VHB), DELTA (VDH),</i><br><i>C (VHC), AUTRES</i> |
| N° 11 : <i>AMIBES ET FLAGELLÉS</i><br><i>INTESTINAUX</i> | N° 22 : <i>SYNDROME</i><br><i>DES ANTI-PHOSPHOLIPIDES</i>                                    |
| N° 12 : <i>LES MALADIES A PRIONS</i>                     | N° 23 : <i>PARASITES SANGUINS</i>  |
| N° 13 : <i>AUTOIMMUNITÉ</i><br><i>ET AUTOANTICORPS</i>   | N° 24 : <i>BIOCHIMIE PÉDIATRIQUE</i>   |
| N° 14 : <i>L'EXPLORATION</i><br><i>DE LA THYROÏDE</i>    | N° 25 : <i>LES MOISSISSURES</i><br><i>D'INTÉRÊT MÉDICAL</i>                                  |

BIOFORMA est la structure nationale qui gère et organise la formation continue conventionnelle des directeurs et directeurs adjoints de L.a.b.m. privés.

Cette formation continue est financée par les trois Caisses Nationales de l'Assurance Maladie (C.N.A.M.T.S., C.C.M.S.A., et C.A.N.A.M.) dans le cadre de la convention passée entre elles et les trois syndicats de biologistes. (S.d.B., S.N.M.B., et S.L.B.C.).

A ce titre, BIOFORMA édite des cahiers de formation comme celui-ci.

Ces ouvrages sont distribués à chaque laboratoire d'analyse de biologie médicale, privés et hospitaliers, aux inspecteurs des DRASS, aux pharmaciens et médecins conseils des CRAM, aux responsables de la DGS et du Ministère de la Santé. Les précédents numéros, ou épuisés en version papier, seront disponibles à la consultation sur le site Internet [www.bioforma.net](http://www.bioforma.net) à partir de 2002.

Ces livres ne sont pas en vente dans le commerce et le tirage est de 6 500 exemplaires.