

## 2

## Infections à transmission parentérale : hépatites B et D

Le mieux connu des virus hépatotropes est le virus de l'hépatite B (VHB), il peut s'intégrer au génome humain et est responsable d'affections chroniques susceptibles de provoquer cirrhose et dégénérescence en carcinome hépatocellulaire. Une co-infection ou une surinfection par le virus de l'hépatite D (VHD), viroïde dont le pouvoir pathogène et la réplication nécessitent l'emprunt de la capsid du VHB, représente un facteur hautement aggravant du pronostic clinique.

### Virus de l'hépatite B

Le virus de l'hépatite B humaine ou VHB est un virus à ADN circulaire identifié en 1967 (Blumberg et coll.) et considéré comme le prototype de la famille des hépadnavirus telle que définie par le comité international de taxonomie des virus. Les autres hépadnavirus sont des virus animaux, en particulier celui de l'hépatite de la marmotte américaine (*Marmotta monax*) ou WHV, qui est un modèle expérimental souvent utilisé, en particulier pour l'étude de l'établissement du carcinome hépatocellulaire.

La microscopie électronique permet d'identifier trois types de particules dans le sérum humain infectieux (Dane et coll., 1970) : le virion, les sphères et les filaments. Le virion, ou particule de Dane représente la particule infectieuse, il a un diamètre de 42 nm et comprend une enveloppe composée des antigènes de surface et une nucléocapside portant les antigènes de capsid et contenant l'ADN viral et l'ADN polymérase virale. Les sphères et les filaments sont constitués par les protéines d'enveloppe et en large excès par rapport aux virions. Ces enveloppes vides, dépourvues d'ADN ne sont pas infectieuses et entraînent une immunisation anti-HBs.

La réplication des hépadnavirus est complexe et très différente de celle que l'on trouve chez les autres virus animaux à ADN. Elle passe par une phase de transcription inverse ARN  $\rightarrow$  ADN qui la fait apparenter au virus de la mosaïque du chou-fleur (virus à ADN) et aux rétrovirus (Ganem et Varmus, 1987 ; Seeger et coll., 1991). Après pénétration du virus dans la cellule,

l'ADN viral partiellement double brin est transformé en ADN double brin superenroulé (CCC DNA pour « covalently closed circular DNA ») qui est retrouvé dans le noyau des cellules infectées. Différents résultats expérimentaux suggèrent que la persistance de l'ADN superenroulé dans la cellule infectée pourrait jouer un rôle majeur dans la chronicité des infections à hépadnavirus. Il y a ensuite synthèse et encapsidation de l'ARN pré-génomique, puis synthèse des brins (-) et (+) de l'ADN viral (Seeger et coll., 1986 ; Will et coll., 1987).

La caractérisation biochimique et génétique des différentes étapes du cycle viral n'est pas sans intérêt pratique car elle permet l'identification de cibles virales potentiellement accessibles à des agents inhibiteurs.

Quatre régions ont été identifiées dans le génome de l'HBV codant pour quatre protéines ou familles de protéines : la polymérase virale, les protéines de capsid, les protéines d'enveloppe et la protéine X.

### **Variabilité du génome viral**

Pendant longtemps, l'importance de la variabilité du génome du VHB est restée insoupçonnée en raison de la complexité et de l'organisation très compacte du génome viral (Ganem et Varmus, 1987 ; Tiollais et coll., 1985). Il existe différents sous-types du VHB correspondant à une variabilité dans les épitopes de l'antigène de surface. Cette variabilité est définie par une hétérogénéité du génome viral. Cette divergence génomique a permis de regrouper les différentes souches du VHB en six (A-F) types génomiques ou génotypes. Six génotypes de A à F ont été décrits et l'analyse de leur répartition géographique montre que le génotype A est prédominant en Europe de l'Ouest, les génotypes B et C en Asie, et les génotypes D et E dans le bassin méditerranéen.

A côté des sous-types et génotypes, il faut individualiser l'existence de variants du VHB qui correspondent à l'apparition de mutations ponctuelles ou de délétions voire à des insertions de séquences d'acide nucléique dans le génome viral au cours de l'infection virale. La plupart d'entre eux correspondent le plus souvent à ce que l'on appelle des « *escape mutant* » ou mutants d'échappement sous la pression immunitaire de l'hôte. Les plus classiques sont les variants négatifs pour le déterminant « a » de l'AgHBs survenant lors de la vaccination contre l'hépatite B et les variants AgHBe négatifs. En effet, la présence d'anticorps anti-HBe n'est pas toujours synonyme d'arrêt de la répllication virale et chez les porteurs du VHB positifs pour les anti-HBe une virémie est détectable chez environ 5 % des patients en Europe du Nord, 10 %-20 % dans le bassin méditerranéen et jusqu'à 50 % en Extrême Orient (Bréchet et coll., 1981 ; Scotto et coll., 1983 ; Zoulim et coll., 1992). Il a aussi été suggéré que ces infections virales seraient associées à une hépatopathie sévère. Les variants AgHBe(-) du VHB sont dus à la présence d'une mutation (Tong et coll., 1990) qui conduit à l'arrêt de la synthèse de l'AgHBe et n'est

donc pas létale pour la réplication du virus. Le plus souvent l'individu est infecté par une souche sauvage et l'on observe l'émergence de la souche mutée probablement sous la pression immunitaire de l'hôte. Des modifications dans le taux de réplication et encapsidation de ces variants interviennent également dans leur sélection.

### Tropisme cellulaire

Une des caractéristiques principales des hépadnavirus est leur hépatotropisme. En effet les antigènes viraux ainsi que l'ADN viral sont retrouvés de façon prédominante dans les cellules hépatiques qui contiennent toutes les formes réplicatives de l'ADN viral.

D'autre part, des séquences d'ADN viral ainsi que des ARN viraux ont pu être détectés dans des cellules extrahépatiques dont les cellules mononucléées du sang et de la moelle (Lamelin et coll., 1995 ; Lamelin et Trépo, 1990 ; Zoulim et coll., 1990). Ces acides nucléiques viraux sont présents en faible quantité dans ces cellules et il a été suggéré que les lymphocytes puissent représenter un réservoir viral extrahépatique permettant la perpétuation de l'infection virale et l'infection du greffon hépatique chez les patients transplantés pour cirrhose virale B (Feraÿ et coll., 1990 ; Zoulim et coll., 1991). Le mécanisme par lequel le génome viral est répliqué et maintenu dans ces cellules n'est pas encore compris (Bouffard et coll., 1990 ; Bouffard et coll., 1992 ; Pasquinelli et coll., 1986). Des séquences d'acide nucléique viral ont aussi été retrouvées dans le pancréas, les reins et la peau (Dejean et coll., 1984).

### Mode de diffusion

La contagiosité du virus de l'hépatite B est liée à sa présence dans la plupart des liquides biologiques des sujets infectés. On retrouve des quantités importantes de particules virales dans la circulation sanguine avec, chez un porteur chronique la présence de  $10^8$  à  $10^9$  virions par ml. Ceci souligne l'extrême infectivité du sérum lorsque l'infection virale est en phase de réplication, qu'il s'agisse d'une infection aiguë ou chronique. Ceci a pu être vérifié non seulement sur le plan épidémiologique lorsque des enquêtes précises sont réalisées dans l'entourage proche d'un sujet infecté mais aussi par des expériences de transmission expérimentale chez le chimpanzé. On retrouve aussi des quantités importantes de virions dans les sécrétions sexuelles avec environ  $10^7$  virions par ml. D'autre part, le virus se retrouve dans des proportions similaires dans la salive des patients infectés. On peut retrouver aussi de l'ADN viral dans les urines, le lait maternel et dans une moindre mesure dans les larmes, la sueur et les selles, ceci va donc influencer sur les modalités de transmission virale et indique que la voie sanguine n'est pas la seule à prendre en compte.

Si l'on compare la contagiosité à celle d'autres virus comme le virus de l'hépatite C ou le virus de l'immunodéficience acquise (VIH), on s'aperçoit

qu'en moyenne, on retrouve  $10^6$  particules virales par ml chez les patients infectés par le VHC et seulement une à deux particules pour les patients infectés par le VIH. Ceci va donc déterminer le risque de contamination accidentelle par piqûre souillée, qui est de l'ordre de 30 % pour le VHB, 3 % pour le VHC et 0,3 % pour le VIH. Le risque de contamination par voie sexuelle peut varier de 30 à 80 % pour le VHB et de 0,1 à 10 % pour le VIH.

Le virus de l'hépatite B est un virus relativement résistant : il résiste pendant 10 heures à 60°C et pendant 5 mn à 100°C. Après un tel traitement thermique, le pouvoir infectieux est supprimé alors que le pouvoir immunogène de l'antigène HBs est conservé. De même, si l'antigène HBs reste stable à un pH de 2,4 pendant 6 heures, l'infectivité est supprimée par ce traitement en milieu acide. Le virus de l'hépatite B est généralement résistant à l'éther, à l'alcool à 90° et à la congélation pendant plusieurs années. Le virus peut aussi persister dans le milieu extérieur et garder son pouvoir infectieux pendant plusieurs jours. La simple irradiation aux ultraviolets ne détruit pas le virus lorsqu'il se trouve dans le plasma ou le sérum. Seul le couplage des ultraviolets à la beta propiolactone est efficace. Pour la décontamination de matériel ou objets contaminés, on pourra utiliser un traitement thermique : la chaleur sèche en poupinelle pendant une heure à 170°C ou la chaleur humide en autoclave (15 mn à 121°C ou 20 mn à 98°C) permet d'inactiver le pouvoir infectieux du virus. Des moyens chimiques peuvent être employés, comme l'utilisation d'eau de Javel à 10 % (hypochlorite de sodium) pendant 2 heures, de l'oxyde de bethilène à 5 % pendant 30 mn ou du glutaraldéhyde pendant 2 heures.

### **Histoire naturelle**

Les manifestations cliniques de l'infection à VHB sont très variées (Ganem et Varmus, 1987 ; Trépo et coll., 1993), l'hépatite virale B aiguë n'en étant que la forme clinique la plus repérable. En fait, des études prospectives ont montré que la majorité (60-70 %) des sujets infectés par le VHB présentent une infection infraclinique : pour chaque cas d'hépatite B aiguë décelée, on recense 2 ou 3 cas d'infection infraclinique. Quand il y a maladie déclarée, les symptômes sont identiques à ceux décrits pour l'hépatite A et seule la sérologie permet d'établir le diagnostic différentiel. L'insuffisance hépato-cellulaire fulminante ou sub-fulminante est une complication rare intervenant dans environ 1 % des cas d'hépatite aiguë avec ictère.

Plus importante est la propension de ces infections à évoluer vers la chronicité, qui leur confère toute leur importance médicale. En effet, 5 à 10 % des sujets adultes exposés au VHB développeront une infection persistante à potentiel cirrhogène et oncogène. Les mécanismes impliqués dans l'évolution vers la chronicité de ces cas infectés sont encore mal élucidés. Récemment, le lymphotropisme du VHB a été évoqué. D'autre part, au cours des hépatites B chroniques, il existe un défaut de production de l'interféron  $\alpha$  par des cellules mononuclées, ainsi qu'un défaut d'activation du système interféron qui

pourrait être lié à un effet inhibiteur du VHB lui-même. L'évolution vers la chronicité est encore plus dramatique chez les nouveau-nés nés de mère positives pour l'antigène HBe. En effet, environ 90 % d'entre eux sont infectés par le VHB, dont plus de 90 % vont développer une infection chronique. Chez le nouveau-né, les mécanismes complexes d'établissement de la chronicité font probablement intervenir l'immaturation de certains effecteurs du système immunitaire, dont le système interféron de l'enfant, et une immunomodulation par les antigènes HBe. L'antigène HBe est une protéine soluble de bas poids moléculaire qui traverse le placenta et pourrait induire une tolérance du système immunitaire vis-à-vis des antigènes de capsidite qui représentent la cible de l'élimination immunitaire des hépatocytes infectés.

Le VHB n'est pas directement cytopathogène pour les cellules hépatiques. La réponse immunitaire contre les antigènes viraux a donc été impliquée dans la pathogénie des lésions hépatiques et l'élimination virale (Ganem et Varmus, 1987 ; Tiollais et coll., 1985). Au cours des hépatites B aiguës ou des hépatites chroniques avec réplication virale, la nécrose hépatocytaire fait intervenir des processus immunitaires à médiation cellulaire, impliquant la reconnaissance d'antigènes viraux sur la membrane hépatocytaire. Les hépatocytes infectés par le VHB seraient lysés par les lymphocytes T cytotoxiques ( $CD8^+$ ), dont la cible est vraisemblablement l'AgHBc membranaire associé aux antigènes HLA de classe I. Cependant, probablement du fait de la faible expression des antigènes HLA de classe I, l'élimination des cellules infectées est partielle, conduisant à un rejet incomplet et chronique des hépatocytes infectés. Lors de la phase de séroconversion anti-HBe, la réplication virale diminue, les antigènes HLA sont exprimés et les cellules infectées sont lysées par les cellules T cytotoxiques. Lorsque la réplication virale s'annule, l'AgHBc n'est plus exprimé et les cellules infectées ne sont plus reconnues comme cible du système immunitaire.

Des études immunologiques récentes ont permis de préciser le rôle des différentes réponses immunitaires cellulaires (Bertoletti et coll., 1994 ; Chisari, 1991 ; Milich, 1988). Au cours des hépatites B aiguës, la réponse cellulaire T restreinte par les molécules HLA de classe II est vigoureuse contre les antigènes de capsidite et le pic de cette réponse est associé chez la plupart des patients à la clairance de l'AgHBs sérique. Au cours des hépatites B chroniques, la réponse cellulaire T restreinte par les molécules HLA de classe II est faible ou indétectable mais une réponse cellulaire T contre l'AgHBc peut être détectée pendant les phases d'exacerbation de l'hépatopathie. Récemment, des études immunologiques réalisées chez des souris transgéniques pour le VHB ont montré que des mécanismes indépendants de la lyse cellulaire pourraient être impliqués dans l'élimination virale par le biais de la sécrétion de cytokines. La réponse cellulaire T restreinte par les molécules HLA de classe I est vigoureuse, polyclonale et multispécifique dans l'hépatite B aiguë, mais déficiente dans l'hépatite chronique. L'apparition de mutants d'échappement à la réponse cellulaire T cytotoxique est peu probable pendant la phase aiguë de

l'infection en raison du caractère multispécifique de la réponse T cytotoxique mais devient possible en cas d'hépatite chronique du fait de l'élimination d'épitopes T cytotoxiques ou de l'inhibition de la réponse T cytotoxique par antagonisme sur les récepteurs T cellulaires.

Les infections chroniques sont caractérisées par la production de particules virales d'antigène HBs que l'on détecte dans le sérum pendant plus de 6 mois. Au cours des infections chroniques à VHB, on distingue deux formes cliniques : le portage chronique asymptomatique de l'antigène HBs et l'hépatite B chronique. Au cours des hépatites B chroniques, on distingue habituellement trois phases successives. La première phase est caractérisée par une réplication virale active. L'AgHBe est présent dans le sérum et les concentrations sériques d'ADN viral, ainsi que l'activité de l'ADN polymérase, sont élevées. Histologiquement, cette phase est caractérisée par la présence de lésions inflammatoires, parfois minimales en cas de tolérance immunitaire, mais habituellement d'une hépatite chronique active. Cette première phase dure de 1 à 15 ans. Lorsque la réaction immunitaire du patient devient suffisante pour éliminer les hépatocytes infectés, les lésions de nécrose hépatocytaire s'accroissent, la concentration de l'ADN viral sérique diminue et la séroconversion anti-HBe survient. Cette deuxième phase dite de séroconversion dure de quelques semaines à quelques mois. Des études prospectives ont montré que l'interruption spontanée de la réplication virale avec séroconversion anti-HBe survient dans 5 à 10 % des cas par an. Pendant ces deux premières phases, des lésions hépatiques graves se développent et aboutissent à la constitution d'une cirrhose.

Pendant la troisième phase, la multiplication virale diminue de façon significative pour ne devenir détectable que par des techniques ultrasensibles de type PCR. Cette phase est caractérisée par la disparition des marqueurs de réplication virale, l'apparition de l'anti-HBe et l'intégration du VHB dans le génome hépatocytaire. Sur le plan lésionnel, on assiste à la disparition des signes d'agressivité histologique. Pendant cette phase, principalement lorsqu'une cirrhose s'est déjà constituée, un carcinome hépatocellulaire peut se développer. Des études prospectives ont montré que, chez les patients atteints d'hépatite B chronique, l'incidence annuelle de survenue d'une cirrhose était d'au moins 2,1 %. De plus, chez ces patients atteints de cirrhose virale B, le carcinome hépatocellulaire survient avec une incidence annuelle de 2,8 %. On comprend mieux que l'objectif thérapeutique soit d'inhiber la réplication virale afin d'enrayer l'évolution de l'hépatite chronique vers la cirrhose et le carcinome hépatocellulaire. Plusieurs études, basées en particulier sur l'utilisation de la PCR, ont permis de montrer la persistance prolongée de séquences d'ADN VHB dans le foie, les cellules mononuclées et le sérum en dépit de la négativité de l'AgHBs. La transmission de ce type de particules virales a été établie à la fois expérimentalement chez le chimpanzé et chez l'homme à l'occasion d'études d'hépatite post-transfusionnelles (Thiers et coll., 1993).

## Chronicité et carcinome hépatocellulaire

Une relation entre carcinome hépatocellulaire (CHC) et infection à VHB a pu être établie sur la base de quatre observations (Ganem et Varmus, 1987 ; Tiollais et coll., 1985) :

- La coïncidence géographique d'une incidence élevée d'infection chronique à VHB et de CHC, notamment en Asie du sud-est et en Afrique intertropicale (Maupas et coll., 1980) ;

- Une étude prospective, portant sur 23 000 sujets à Taiwan, a montré que le risque relatif de développer un carcinome hépatocellulaire chez les porteurs chroniques de l'antigène HBs était de 94 par rapport aux sujets négatifs pour l'antigène HBs ;

- L'apparition de CHC chez les animaux chroniquement infectés par les hépadnavirus. Cette incidence est proche de 100 % chez la marmotte après 4 ans d'infection par le *Woodchuck hepatitis virus* (WHV), et est plus faible chez l'écureuil. Chez le canard, un lien entre l'infection virale et la survenue de tumeurs hépatiques n'a pas été formellement démontré.

- La présence de séquences d'ADN viral intégré de façon aléatoire dans le génome de l'hôte dans une grande proportion de tumeurs hépatiques et de lignées cellulaires.

- La persistance de séquences d'ADN et d'ARN du VHB dans une forte proportion de tumeurs développées chez des individus et des marmottes avec carcinome hépatocellulaire, en dépit de la négativité de l'AgHBs (Paterlini et coll., 1993, 1995).

Les mécanismes de l'hépatocarcinogénèse induite par les hépadnavirus sont multiples et encore mal précisés (Ganem et Varmus, 1987 ; Tiollais et coll., 1985). Le VHB ne comporte pas d'oncogène. Ceci avait été suggéré par la période de latence très longue entre l'infection aiguë et l'apparition du CHC (plusieurs décades) et a été confirmé par la suite par des analyses génétiques.

Chez l'homme, l'intégration du génome viral survient de façon aléatoire (Bréchet et coll., 1980 ; Bréchet et coll., 1981 ; Dejean et coll., 1986 ; Wang et coll., 1990). Cette intégration peut parfois activer l'expression d'oncogènes ou de gènes cellulaires contrôlant la division cellulaire, par mutagenèse insertionnelle. Dans des tumeurs hépatiques associées au VHB, une activation de certains facteurs de croissance cellulaire a pu aussi être montrée.

La dérégulation de facteurs suppresseurs de tumeur a aussi été invoquée dans l'oncogénèse associée au VHB. Récemment, l'analyse de tumeurs hépatiques provenant d'Afrique du sud et d'Asie, après amplification par PCR du gène suppresseur de tumeur p53 et son séquençage, a montré une mutation ponctuelle spécifique survenant dans environ 50 % des cas. La production d'une protéine p53 mutée pourrait être responsable de la prolifération clonale des hépatocytes. Depuis ces premières publications, plusieurs groupes ont reporté

des fréquences de mutation du gène p53 variables en fonction des zones géographiques. Une exposition à un carcinogène chimique, l'aflatoxine B1, pourrait être impliquée dans cette mutation.

La présence de protéines transactivatrices potentiellement codées par le génome viral intégré dans le génome de l'hôte, protéines X et pré-S2/S tronquée a aussi été invoquée dans les mécanismes de transformation cellulaire par activation en *trans* de gènes cellulaires. Cette hypothèse reste toutefois à démontrer sur un plus grand nombre de cas.

Enfin, il est important de noter que la structure de l'ADN du VHB intégré, analysée dans des tumeurs hépatiques humaines, est très variable d'une tumeur à l'autre et d'un individu à l'autre. On peut observer des intégrations subgénomiques, multimériques, comportant des réarrangements ou des délétions ainsi que des duplications parfois d'orientation opposée etc. Ce profil d'intégration apparaît aléatoire et complexe, et il ne semble pas exister de schéma général d'intégration comme cela est rencontré chez la marmotte (Fourel et coll., 1990 ; Hsu et coll., 1988). Un point commun à la majorité des tumeurs hépatiques rencontrées chez l'homme est la présence d'une infection à VHB de longue durée avec la présence de lésions hépatiques de cirrhose, une régénération cellulaire continue et une intégration du génome viral.

## Co-infection par le VHD

Le virus de l'hépatite delta (VHD) est un pseudo-virus à ARN découvert en 1977 (Rizzetto et coll.) et tout à fait unique dans le monde animal. Dans un premier temps, l'antigène delta, mis en évidence dans le noyau d'hépatocytes de malades atteints d'hépatite chronique B, avait été considéré comme un nouvel antigène du virus de l'hépatite B. Des expériences de transmission expérimentale au chimpanzé devaient montrer qu'il s'agissait d'une protéine codée par un agent pathogène distinct du virus de l'hépatite B, le virus de l'hépatite delta (Erlinger, 1985 ; Bréchet, 1985 ; Bernuau, 1985).

Dans les conditions naturelles de l'infection, le VHD ne se propage qu'en présence du virus de l'hépatite B dont il emprunte l'enveloppe. On observe ainsi des co-infections au cours desquelles les deux virus sont acquis simultanément et des surinfections par le VHD de malades déjà porteurs chroniques du virus B. Ce pseudo-virus empruntant l'enveloppe d'un virus auxiliaire se comporte un peu à l'image des virus satellites des virus à ARN des plantes (Bonino et coll., 1986), mais il s'apparente aux viroïdes par son autonomie de réplication. En effet, à l'opposé des ARN et virus satellites qui utilisent les enzymes de réplication de leurs virus auxiliaires, le VHD se réplique sans aucun facteur de VHB, dont le rôle se limite à fournir une enveloppe à son génome (Kuo et coll., 1989 ; Fu et Taylor, 1993).

Le virion complet infectieux, de 36 nm de diamètre, comprend l'ARN viral et environ 70 molécules d'antigène VHD enveloppés dans une bicouche lipidique contenant l'antigène de surface (AgHBs) du VHB.

La réplication du VHD débute par l'adhérence et la pénétration du virion dans l'hépatocyte et comporte trois étapes successives. Il s'agit d'un mécanisme de réplication extrêmement fin puisqu'il permet dans un premier temps d'amplifier la réplication virale dans la cellule infectée sans qu'il y ait excrétion de l'ARN viral et dans un deuxième temps de ralentir la réplication virale, probablement pour favoriser la survie de la cellule infectée, tout en permettant l'excrétion des virus néoformés dans la cellule infectée. Le VHD a une réplication autonome, sans intervention d'aucun facteur du VHB. Mais en l'absence d'infection concomitante par le VHB, génératrice d'enveloppe, l'ARN du VHD ne peut pas être excrété de la cellule. Chez certains transplantés hépatiques initialement infectés par le VHB et le VHD, la réinfection du foie par le VHD peut se faire sans réinfection par le VHB (Zignedo et coll., 1990). Toutefois, seul un très faible nombre de cellules sont infectées par le VHD au cours de ce type d'infection, et c'est seulement après la réinfection par le VHB que la diffusion du VHD dans le foie peut se faire.

Les études séro-cliniques de malades infectés par le VHB et le VHD, ainsi que le modèle de la marmotte américaine infectée naturellement par un virus comparable au VHB (et susceptible de surinfection expérimentale par le VHD humain) ont montré que le VHD inhibe la réplication du VHB. Le mécanisme de cette inhibition est encore mal compris. Il pourrait y avoir contribution d'un effet indirect dû à la production d'interféron par la cellule infectée par le VHD, la présence de l'ARN double-brin étant un facteur stimulant la synthèse d'interféron.

L'épidémiologie et les modes de transmission du VHD ressemblent en partie à ceux du VHB (Bernuau, 1985 ; Rizzetto et coll., 1991). En Europe du Nord et de l'Ouest, aux Etats-Unis, où le portage chronique du VHB est peu fréquent (<1 %), l'infection par le VHD est essentiellement confinée aux toxicomanes utilisateurs de drogues par voie parentérale.

## Histoire naturelle

Cliniquement, rien ne permet de distinguer une hépatite aiguë par co-infection VHB/VHD d'une hépatite aiguë par le VHB seul. Le diagnostic sérologique de la co-infection repose sur la présence d'AgHBs et d'IgM anti-HBc de titre élevé (témoin d'une infection récente par le VHB) et des marqueurs du VHD : antigène VHD pendant une à trois semaines après le début de l'ictère puis anticorps anti-VHD, tous deux détectés par méthode immuno-enzymatique, ARN du VHD détecté par hybridation moléculaire (Dubois et Goudeau, 1988). Toutefois, du fait de l'inhibition de la réplication du VHB induite par le VHD, l'AgHBs peut être indétectable dans le sérum pendant quelques semaines (Carreda et coll., 1989). La co-infection par VHB/VHD se caractérise par une tendance à une gravité augmentée de l'hépatite aiguë comparée à celle occasionnée par le VHB seul (Dubois et coll., 1988).

Lors de l'infection par le VHD chez un sujet chroniquement infecté par le VHB, l'éventualité la plus fréquente est le développement d'une infection chronique delta (Bernuau, 1985). Si l'infection chronique par le VHB est connue, le diagnostic repose sur la mise en évidence d'une séro-conversion pour les marqueurs du VHD (Dubois et coll., 1988 ; Buti et coll., 1988b ; Roingeard et coll., 1992). Sans la connaissance d'une sérologie VHB antérieure, le diagnostic repose sur la mise en évidence des marqueurs du VHD : antigène VHD à la phase précoce de l'infection du VHD, puis anticorps anti-VHD et antigène HBs, en l'absence d'IgM anti-HBc (témoignant d'un contact ancien avec le VHB). Toutefois, le VHD inhibant la réplication du VHB, l'antigène HBs peut être indétectable pendant la phase aiguë de la surinfection, et parfois même pendant plusieurs mois (Buti et coll., 1988a). L'établissement d'une infection chronique delta marquée par la persistance des marqueurs du VHD, est caractérisé par une accélération très rapide de l'hépatite chronique vers une insuffisance hépatocellulaire (en un à trois ans) dans 15 à 20 % des cas (Bonino et coll., 1987). Il est probable que le VHD exerce le maximum de son effet pathogène dans les premières années de la surinfection ; pour les malades qui survivent à cette période, il semble que l'effet de la surinfection VHD sur l'évolution de l'hépatite chronique AgHBs positive soit moins marqué. La surinfection par le VHD ne constitue pas, en elle-même, un risque accru de développement d'un carcinome hépatocellulaire.

Les mécanismes impliqués dans la pathogenèse du VHD sont encore mal connus. Des études histologiques ont suggéré un effet cytopathique direct ; d'autres ont suggéré un mécanisme indirect, via une réponse immunitaire cellulaire T, comme pour le VHB. L'étude des perturbations hépatiques de malades atteints d'hépatite chronique delta avec ou sans immunodéficience acquise n'a pas montré de différences significatives (Buti et coll., 1991). Il est donc probable que l'immunité cellulaire T joue un rôle modeste dans l'agression hépatique observée au cours de l'hépatite delta.

## BIBLIOGRAPHIE

Bernuau J. Les hépatites dues au virus D. *Med Science* 1985, 1 : 69-73

Bertoletti A, Sette A, Chisari F, Penna A, Levrero M, De Carli M, Fiaccadori F, Ferrari C. Natural variants of cytotoxic epitopes are T-cell receptor antagonists for antiviral cytotoxic T cells. *Nature* 1994, 369 : 407-410

Blumberg BS, Gerstley BJS, Hungerford DA, London WT, Sutwick A. A serum antigen (Australia antigen) in Down's syndrome, leukemia and hepatitis. *Ann Intern Med* 1967, 66 : 924-931

Bonino F, Heermann KH, Rizzetto M, Gerlich WH. Hepatitis delta virus : protein composition of delta antigen and its hepatitis B virus-derived envelope. *J Virol* 1986, 58 : 945-950

Bonino F, Negro F, Baldi M, Brunetto MR, Chiaberge E, Capalbo M et coll. The natural history of chronic delta hepatitis. In : The hepatitis delta virus and its infection. Rizzetto M, Gerin JL, Purcell RH Eds. NY : Alan R. Liss Inc, 1987, 145-152

Bouffard P, Lamelin JP, Zoulim F, Pichoud C, Trepo C. Different forms of hepatitis B virus DNA and expression of HBV antigens in peripheral blood mononuclear cells in chronic hepatitis B. *J Med Virol* 1990, **31** : 312-317

Bouffard P, Lamelin JP, Zoulim F, Lepot D, Trepo C. Phytohemagglutinin and concanavalin A activate hepatitis B virus in peripheral blood mononuclear cells of patients with chronic hepatitis B virus infection. *J Med Virol* 1992, **37** : 255-262

Bréchet C, Pourcel C, Louise A, Rain B, Tiollais P. Presence of integrated hepatitis B virus DNA sequences in cellular DNA of human hepatocellular carcinoma. *Nature* 1980, **286** : 533-535

Bréchet C, Scotto J, Charnay P, Hadchouel M, Degos F, Trepo C, Tiollais P. Detection of hepatitis B virus DNA in liver and serum : a direct appraisal of the chronic carrier state. *Lancet* 1981, **2** : 765-768

Bréchet C. L'agent delta : biologie et pathobiologie. *Med Science* 1985, **1** : 66-68

Buti M, Esteban M, Jardi R, Allende H, Guardia J, Roggendorf M. Chronic delta infection in a patient without detectable HBsAg in serum. *Hepatology* 1988a, **8** : 985-986

Buti M, Esteban M, Roggendorf M, Fernandez J, Jardi R, Rashofer R et coll. Hepatitis D virus RNA in acute delta infection : serological profile and correlation with other markers of hepatitis D virus infection. *Hepatology* 1988b, **8** : 1125-1129

Buti M, Esteban M, Espanol MT, Malagelada A, Jardi R, Rodriguez Frias F et coll. Influence of human immuno-deficiency virus infection on cell-mediated immunity in chronic D hepatitis. *J Infect Dis* 1991, **163** : 1351-1353

Carreda F, Antinori S, Pastecchia C, Coppin P, Palla M et coll. Incidence of hepatitis delta virus infection in acute HBsAg negative hepatitis. *J Infect Dis* 1989, **159** : 977-979

Chisari F, Klopchin K, Morijama T, Pasquinelli C, Dunsford HA, Sell S, Pinkert CA, Brinster RL, Palmiter RD. Molecular pathogenesis of hepatocellular carcinoma in hepatitis B virus transgenic mice. *Cell* 1989, **59** : 1145-1156

Chisari F. Analysis of hepadnavirus gene expression, biology, and pathogenesis in the transgenic mouse. *Curr Top Microbiol* 1991, **168** : 85-101

Dane DS, Cameron CH, Briggs M. Virus-like particles in serum of patients with Australia-antigen-associated hepatitis. *Lancet* 1970, **1** : 695-698

Dejean A, Lugassy C, Zafrani S, Tiollais P, Brechot C. Detection of hepatitis B virus DNA in pancreas, kidney and skin of two human carriers of the virus. *J Gen Virol* 1984, **65** : 651-655

Dejean A, Bougueleret L, Grzeschik KH, Tiollais P. Hepatitis B virus DNA integration in a sequence homologous to v-erb-A and steroid receptor genes in a hepatocellular carcinoma. *Nature* 1986, **322** : 70-72

Dubois F, Goudeau AM, Roingeard P, Bacq Y, Guilmot JL, Choutet P. Diagnostic sérologique et épidémiologique des hépatites aiguës delta en Indre-et-Loire. *Gastroenterol Clin Biol* 1988, **12** : 887-893

Dubois F, Goudeau AM. Kinetics of delta antigen and antibody in acute delta hepatitis : evaluation with different enzyme immunoassays. *J Clin Microbiol* 1988, **26** : 1339-1342

Erlinger S. L'hépatite D. *Med Science* 1985, **1** : 64-65

Feray C, Zigneno AL, Samuel D, Bismuth A, Reynes A, Tiollais P, Bismuth H, Brechot C. Persistent hepatitis B virus infection of mononuclear cells without concomitant liver infection. *Transplantation* 1990, **49** : 1155-1158

Fouré G, Trepo C, Bougueleret L, Henglein B, Ponzetto A, Tiollais P, Buendia MA. Frequent activation of N-myc genes by hepadnavirus insertion in woodchuck liver tumors. *Nature* 1990, **347** : 294-298

Fu TB, Taylor J. The RNAs of hepatitis delta virus are copied by RNA polymerase II in nuclear homogenates. *J Virol* 1993, **67** : 6965-6967

Ganem D, Varmus HE. The molecular biology of the hepatitis B viruses. *Ann Rev Biochem* 1987, **56** : 651-693

Hsu TY, Moroy T, Etiemble J, Louise A, Trépo C, Tiollais P, Buendia MA. Activation of c-myc by woodchuck hepatitis virus insertion in hepatocellular carcinoma. *Cell* 1988, **55** : 627-635

Kay A, Mandart E, Trepo C, Galibert F. The HBV HBx gene expressed in E.coli is recognized by sera from hepatitis patients. *EMBO J* 1985, **4** : 1287-1292

Kuo MYP, Chao M, Taylor J. Initiation of replication of the human hepatitis delta virus genome from cloned DNA : role of delta antigen. *J Virol* 1989, **63** : 1945-1950

Lamelin JP, Trepo C. The hepatitis B virus and the peripheral blood mononuclear cells : a brief review. *J Hepatol* 1990, **10** : 120-124

Lamelin J, Zoulim F, Trépo C. Lymphotropism of hepatitis B and C viruses : an update and a new comer. *Int J Clin Lab Res* 1995, **25** : 1-6

Maupas P, Goudeau A, Coursaget P, Chiron J et coll. Hepatitis B virus infection and primary hepatocellular carcinoma : epidemiological, clinical and virological studies in Senegal from the perspective of prevention by

active immunization. In : *Viruses in naturally occurring cancers* ». Cold Spring Harbor Conferences on Cell Proliferation, vol 7, Cold Spring Harbor Laboratory 1980, 481-506

Michel ML, Pontisso P, Sobczack E, Malpierce Y, Streek PE, Tiollais P. Synthesis in animal cells of hepatitis B surface antigen particles carrying a receptor for polymerized human serum albumin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984, **81** : 7708-7712

Milich D. T- and B-cell recognition of hepatitis B viral antigens. *Immunol Today* 1988, **9** : 380-386

Milich DR, Mac Lachlan A, Chisari FV, Kent SBH et coll. Immune response to the pre-S(1) region of the hepatitis B surface region (Hbs Ag) : a pre-S(1) specific T cell response can bypass non responsiveness to the pre-S(2) and S regions of Hbs Ag. *J Immunol* 1986, **137** : 315-322

Paterlini P, Driss F, Pisi E, Franco D, Berthelot P, Bréchet C. Persistence of hepatitis B and hepatitis C viral genomes in primary liver cancers from HBsAg negative patients : a study of a low endemic area. *Hepatology* 1993, **17** : 20-29

Paterlini P, Poussin K, Kew M, Franco D, Bréchet C. Selective accumulation of the X transcript of hepatitis B virus in patients negative for hepatitis B surface antigen with hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 1995, **21** : 313-321

Pasquinelli C, Laure F, Chatenaud L, Beaurin G, Gazengel C, Bismuth H et coll. Hepatitis B virus DNA in mononuclear blood cells. *J Hepatol* 1986, **3** : 95-103

Persing DH, Varmus HE, Ganem G. Antibodies to pre-S and X determinants arise during natural infection with ground squirrel hepatitis virus. *J Virol* 1986, **60** : 177-184

Pfaff E, Salfeld J, Gmelin K, Schaller H, Theilmann L. Synthesis of the X protein of hepatitis B virus in vitro and detection of anti-X antibodies in human sera. *Virology* 1987, **158** : 456-460

Pugh JC, Sninsky JJ, Summers JW, Schaeffer E. Characterization of a pre-S polypeptide on the surfaces of infectious avian hepadnavirus particles. *J Virol* 1987, **61** : 1384-1390

Rizzetto M, Canese MG, Arico J, Crivelli O, Bonino F, Trépo C, Verme G. Immunofluorescence detection of a new antigen-antibody system (d/anti-d) associated to the hepatitis B virus in the liver and in the serum of HBsAg carriers. *Gut* 1977, **18** : 997-1003

Rizzetto M, Ponzetto A, Forzani I. Epidemiology of hepatitis delta virus : overview. In : *The hepatitis delta virus*. Gerin JL, Purcell RH, Rizzetto M Eds. NY : Willet-Liss Inc, 1991, 1-20

Roingeard P, Dubois F, Marcellin P, Bernuau J, Bonduelle S, Benhamou JP, Goudeau AM. Persistent delta antigenaemia in chronic delta hepatitis and its relation with human immunodeficiency virus infection. *J Med Virol* 1992, **38** : 191-194

Scotto J, Hadchouel M, Hecy C, Yvart J, Tiollais P, Bréchet C. Detection of hepatitis B virus DNA in serum by a simple spot hybridization technique : comparison with results for other viral markers. *Hepatology* 1983, **3** : 279-284

Seeger C, Ganem D, Varmus HE. Biochemical and genetic evidence for the hepatitis B virus replication strategy. *Science* 1986, **232** : 477-484

Seeger C, Summers J, Mason WS. Viral DNA synthesis. *Curr Top Microbiol Immunol* 1991, **168** : 41-59

Thiers V, Lunel F, Valla D, Azar N, Fretz C, Frangeul L, Huraux JM, Opolon P, Bréchet C. Post-transfusional anti-HCV-negative non-A non-B hepatitis (II) serological and polymerase chain reaction analysis for hepatitis C and hepatitis B viruses. *J Hepatol* 1993, **18** : 34-39

Tiollais P, Pourcel C, Dejean A. The hepatitis B virus. *Nature* 1985, **317** : 489-495

Tong S, Li J, Vitvitski L, Kay A, Trépo C. Active hepatitis B replication in the presence of anti-HBe is associated with viral variant containing an inactive pre-C region. *Virology* 1990, **176** : 596-603

Trépo C, Zoulim F, Alonso C, Petit MA, Pichoud C, Vitvitski L. Diagnostic markers of viral hepatitis B and C. *Gut*, 1993, **34** : S20-S25

Vitvitski-Trepo L, Kay A, Pichoud C, Chevalier P, Trepo C. Early and frequent detection of HBx Ag and/or anti-HBx in hepatitis B virus infection. *Hepatology* 1990, **12** : 1278-1283

Wang J, Chenivesse X, Henglein B, Bréchet C. Hepatitis B virus integration in a cyclin A gene in a hepatocellular carcinoma. *Nature* 1990, **343** : 555-557

Will H, Reiser W, Weimer T, Pfaff E, Buscher M, Sprengel R, Cattaneo R, Schaller H. Replication strategy of human hepatitis B virus. *J Virol* 1987, **61** : 904-911

Zignedo AL, Dubois F, Samuel D, Georgeopolou U, Reynes M, Gentilini P et coll. Serum hepatitis delta virus RNA in patients with delta hepatitis and in liver graft recipients. *J Hepatol* 1990, **11** : 102-110

Zoulim F, Lamelin JP, Trepo C. Implications cliniques des interactions entre le virus de l'hépatite B et les leucocytes mononucléés. *Gastroenterol Clin Biol* 1990, **14** : 255-262

Zoulim F, Vitvitski L, Bouffard P, Pichoud C, Rougier P, Lamelin J, Trépo C. Detection of pre-S1 proteins in peripheral blood mononuclear cells from patients with HBV infection. *J Hepatol* 1991, **12** : 150-156

Zoulim F, Mimms L, Floreani M, Pichoud C, Chemin I, Kay A, Vitvitski L, Trépo C. New assays for quantitative determination of viral markers in management of chronic hepatitis B virus infection. *J Clin Microbiol* 1992, 30 : 1111-1119