

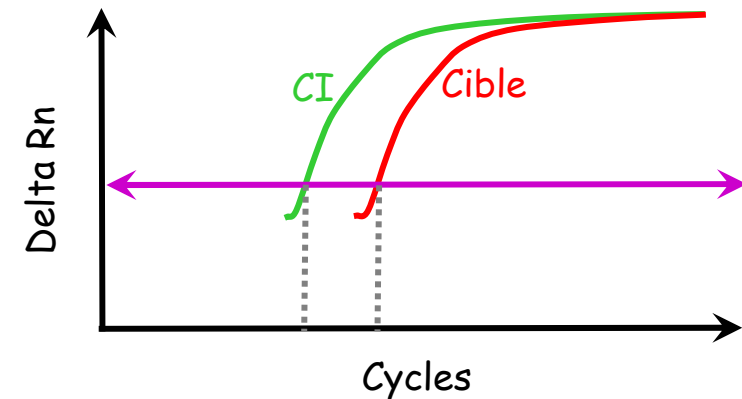
M. C. 63 ans

Profil sérologique à l'hospitalisation :

- Ag HBs : négatif
- Anti-HBs : négatif
- Anti-HBc : **positif**

Informations complémentaires :

- Patient d'origine Africaine
- Sce Hépato-Gastroentérologie
- Suspicion CHC - cytolyse modérée

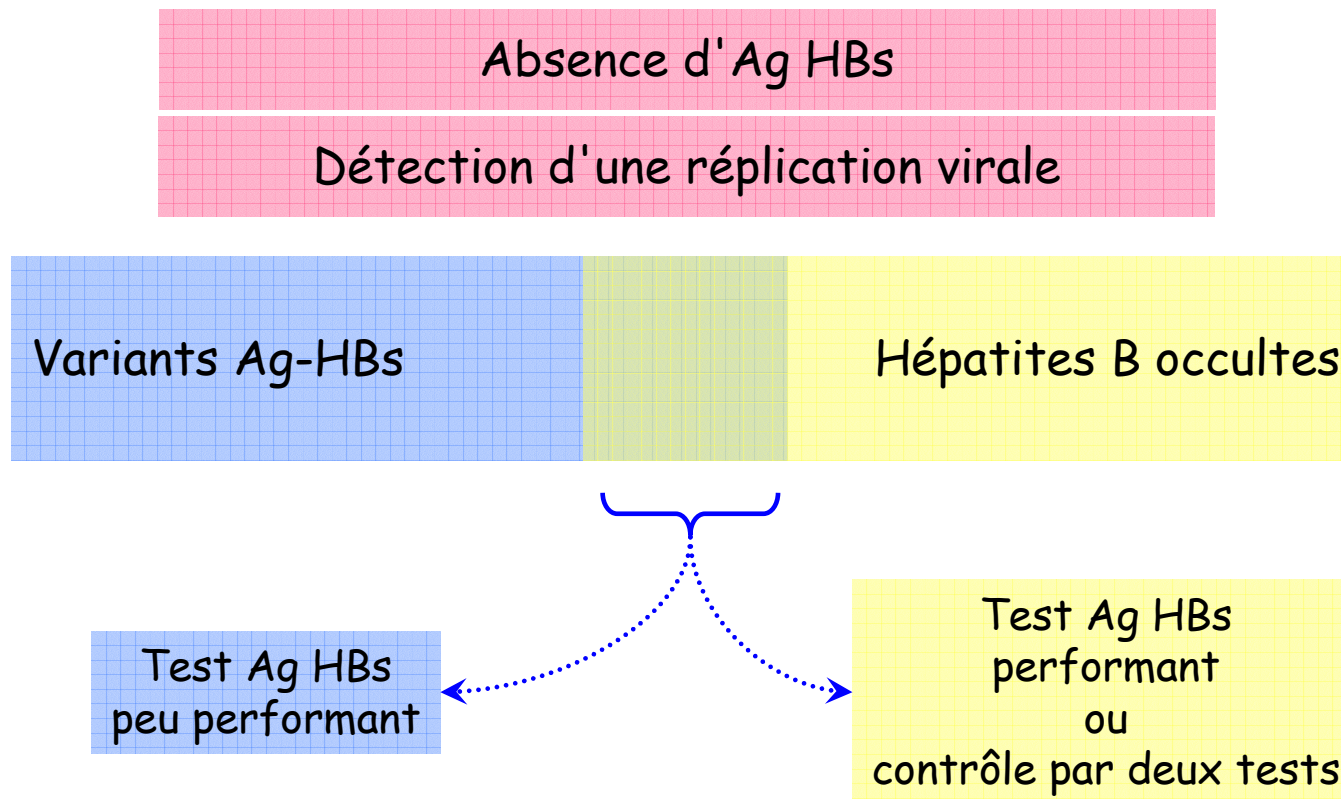


Date	J0	J 10	J 30
N° sérum			
Ag HBs Test 1 (seuil=1)	0.8	0.9	3.20
Ag HBs Test 2 (seuil=1)	0.4	1.2	9.5
HBV Cobas Taqman (UI/mL)	730	3.400	21.300

Hypothèses :

- ✓ hépatite à Ag HBs variant ?
- ✓ hépatite B occulte ?

## *A la frontière entre le réel et l'occulte*



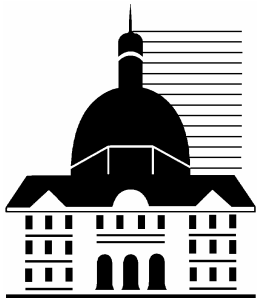
# Les Mutants de l'enveloppe du VHB et diagnostic



Une espèce rare en voie d'émergence



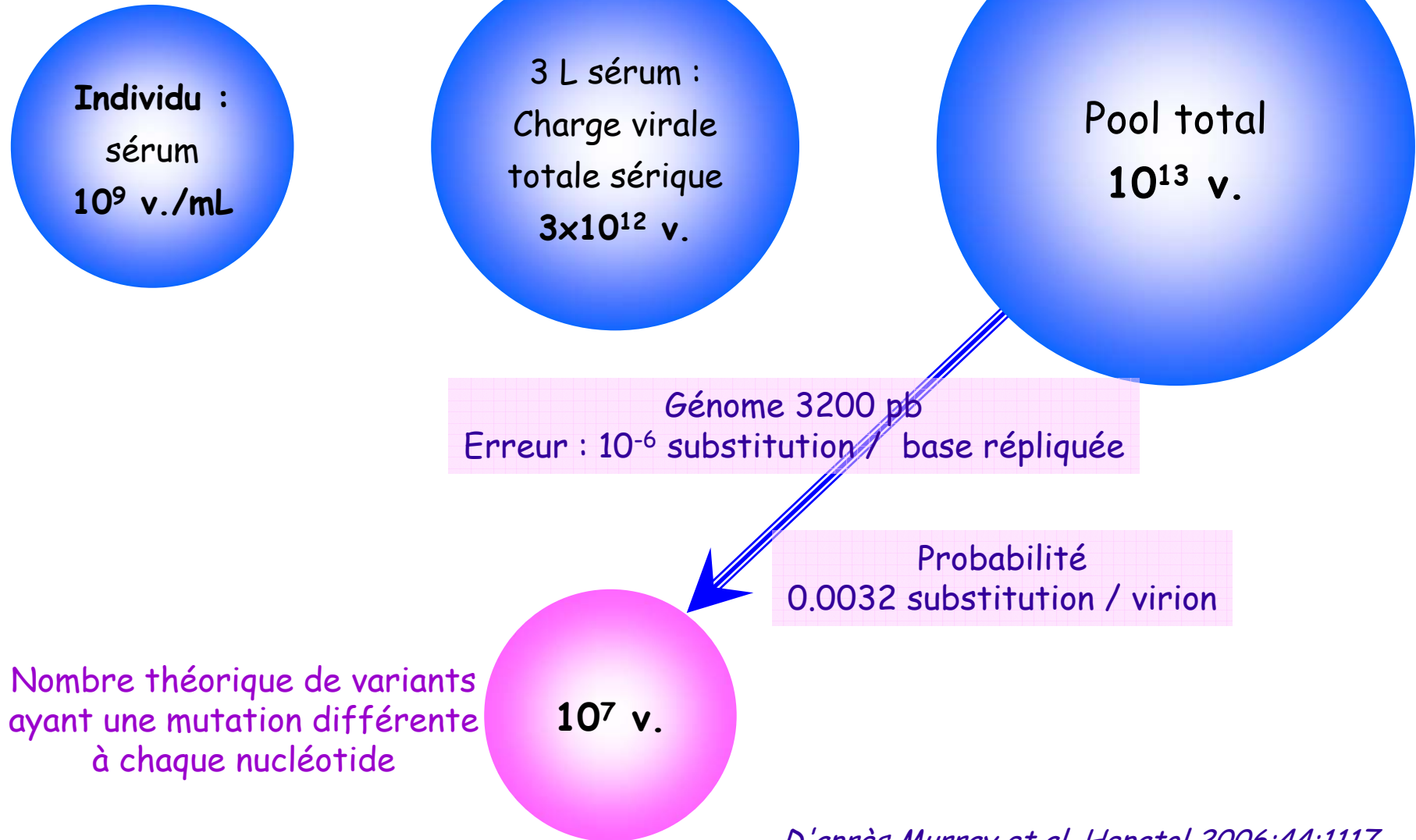
Une espèce adaptée en voie d'extinction ?



Groupe Hospitalier  
Pitié-Salpêtrière

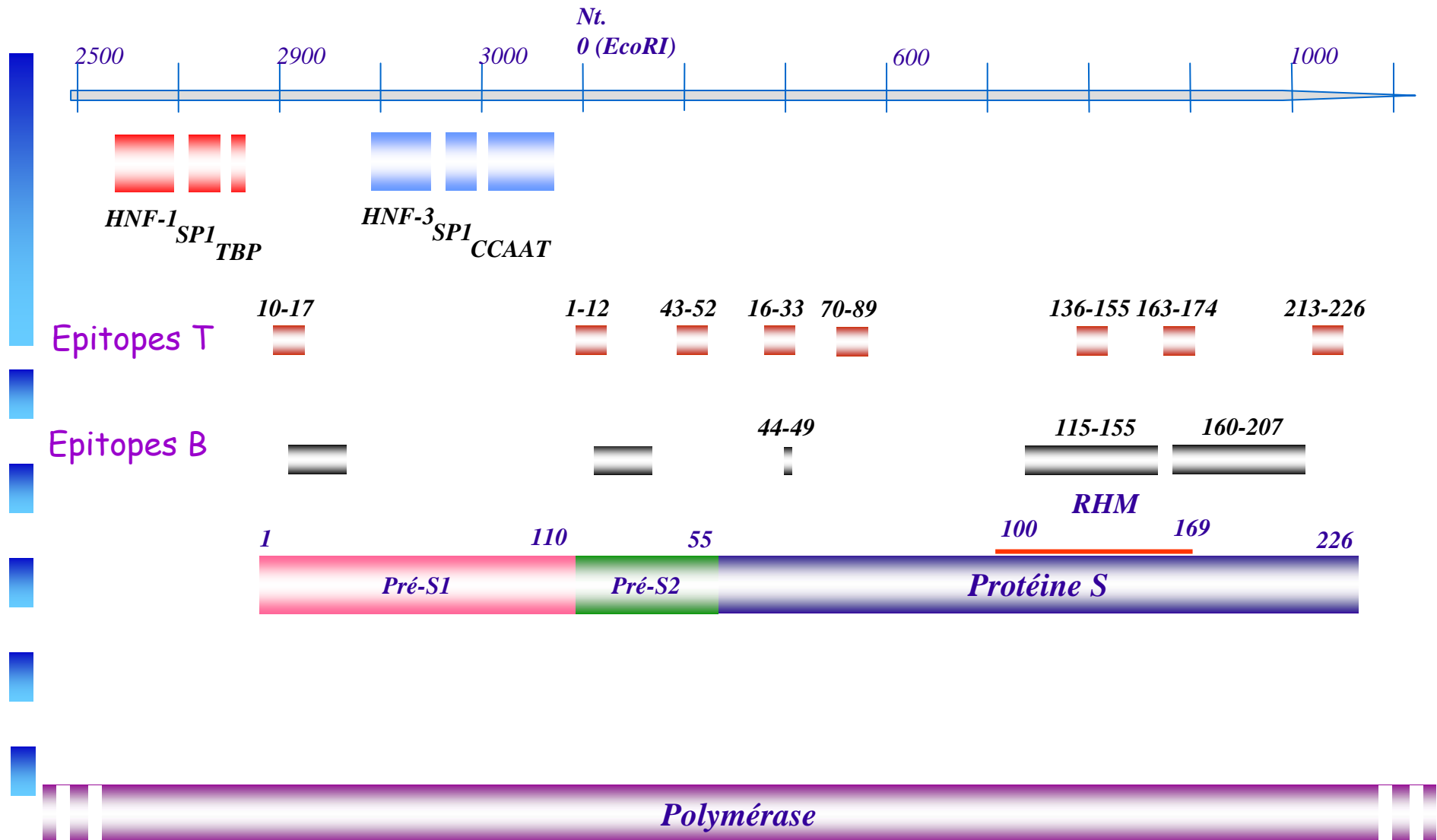
*Vincent THIBAUT*  
*Laboratoire de Virologie*

## Une question de cinétique virale



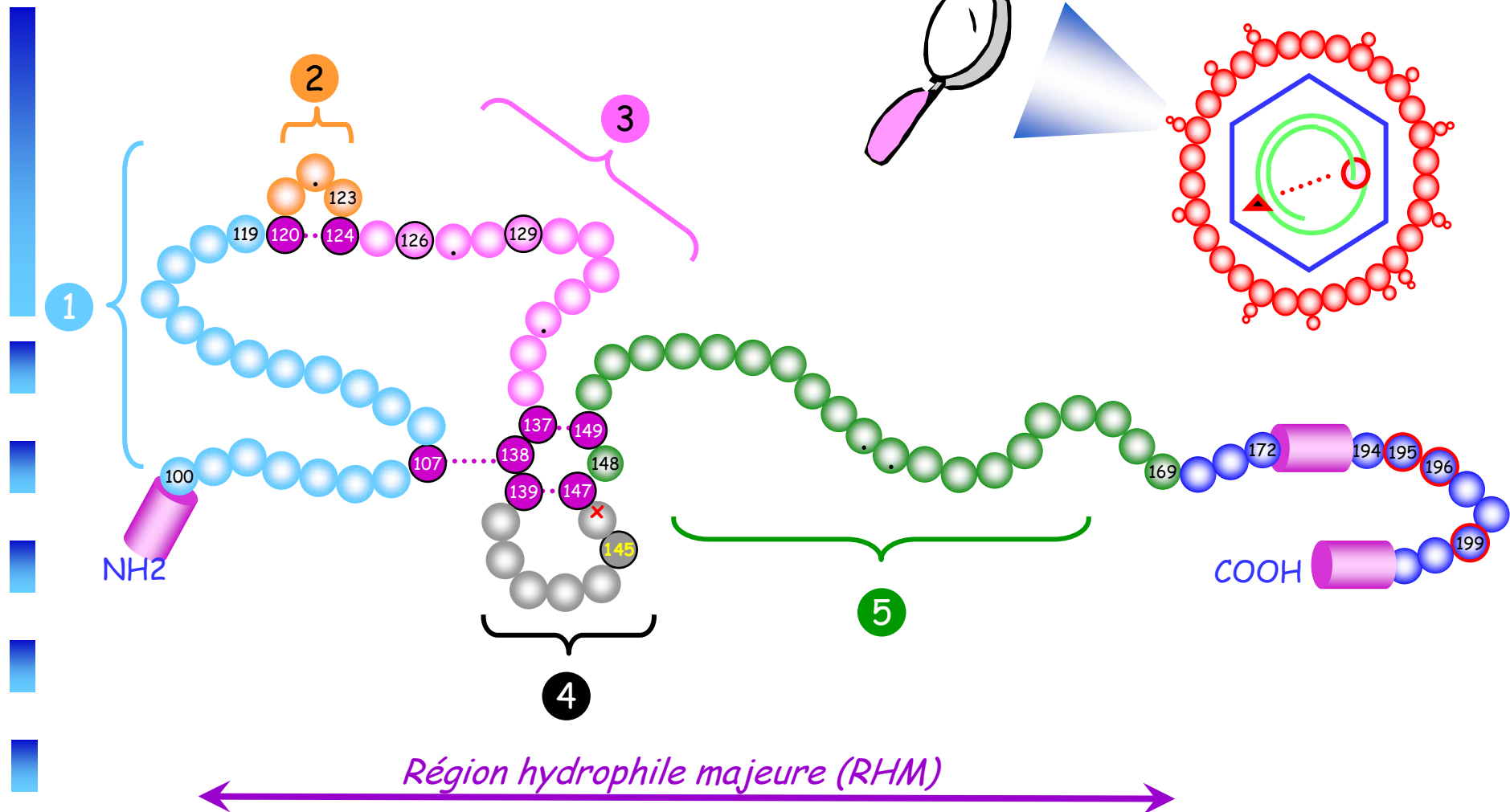
*D'après Murray et al. Hepatol 2006;44:1117*

# Organisation du gène S



# Ag HBs : structure

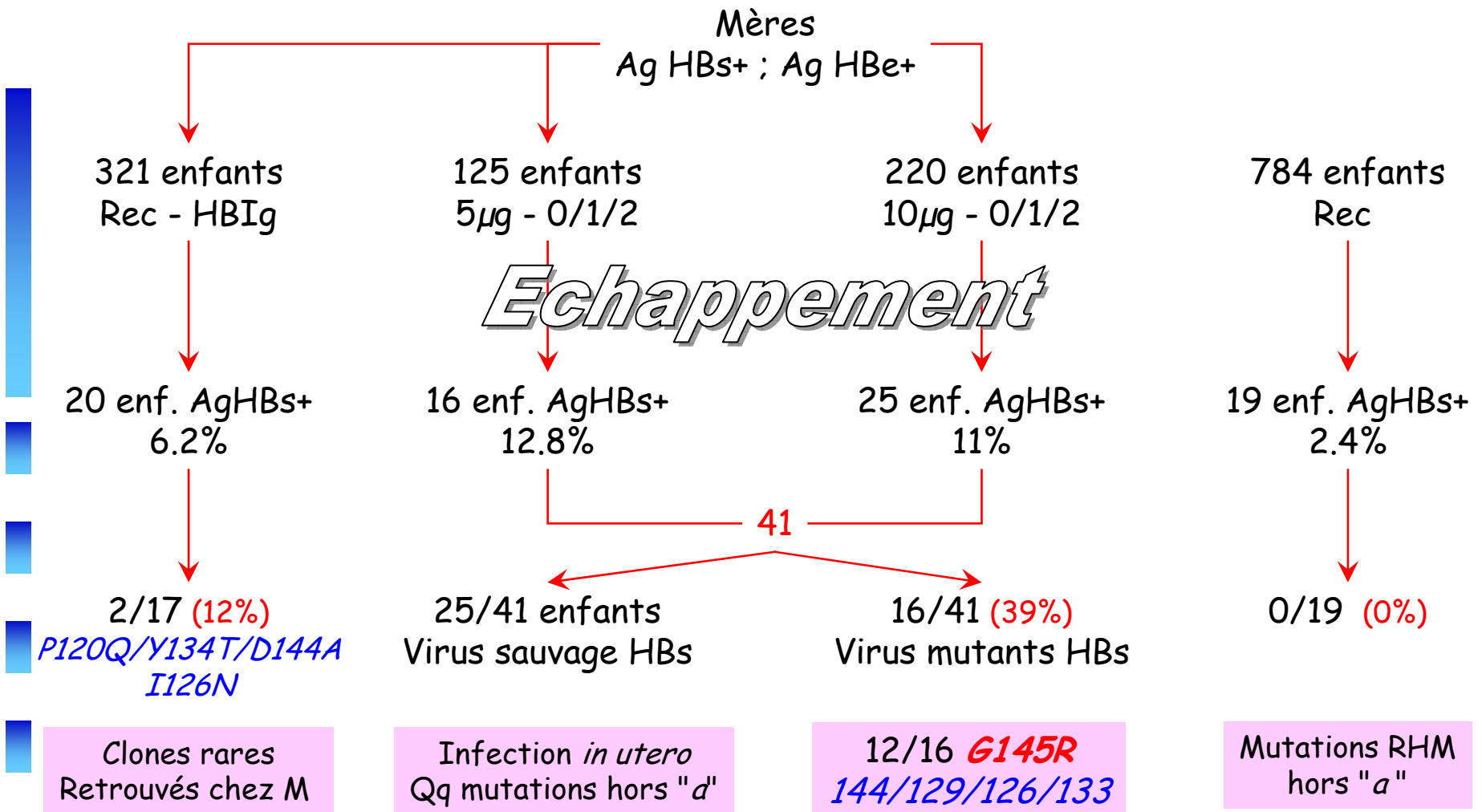
## Déterminant "a" (124-147)





## *Vaccination et variants Ag HBs*

# Vaccination et Mutants HBs

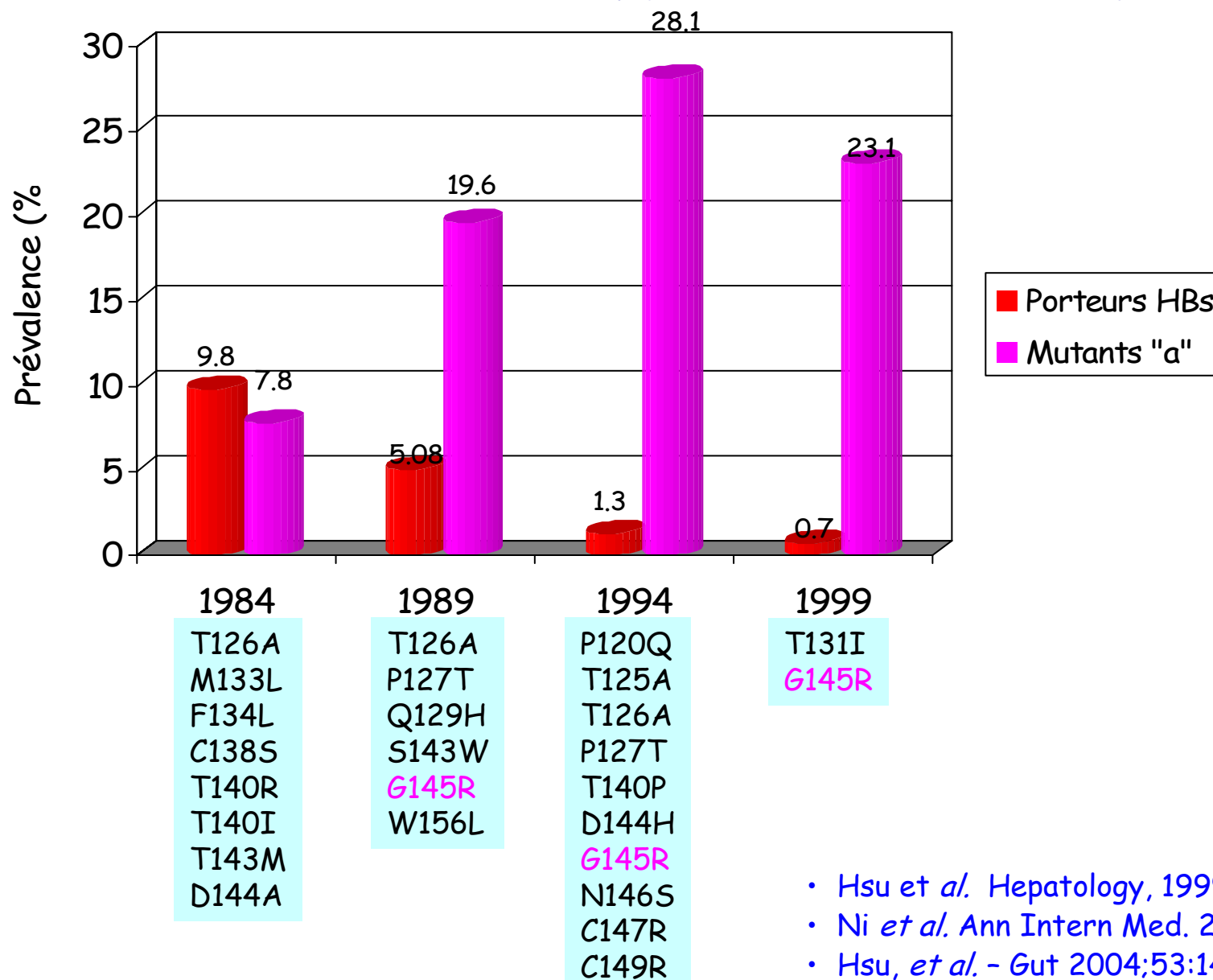


D'après Ngui et al.  
JID, 1997; 176:1360

D'après Oon et al.  
Vaccine, 1995; 13:699-702

D'après Basuni et al.  
Vaccine, 2004; 22:2791.

## Prévalence des Mutants "s" à Taiwan



- Hsu et al. Hepatology, 1999; 30:1312
- Ni et al. Ann Intern Med. 2001;135:796
- Hsu, et al. - Gut 2004;53:1499-1503



*Variants et hépatite B chronique :  
quelle prévalence*

# *Les variants HBs, quelle prévalence dans l'hépatite B chronique?*

- Interprétation des études en fonction :
  - ⊗ De la région géographique considérée :
    - ✓ Prévalence des porteurs chroniques
    - ✓ Implémentation d'une politique vaccinale
    - ✓ Génotypes ?
  - ⊗ De l'âge de la population étudiée
    - ✓ Durée d'infection
    - ✓ Programme de vaccination
  - ⊗ Du stade de la maladie
  - ⊗ Du test sérologique utilisé pour le recrutement
    - ✓ De la présence d'autres marqueurs sérologiques
  - ⊗ De la technique utilisée : séquençage direct vs. clonage

## Les variants HBs, quelle prévalence ?

- 42 patients hépatite B chronique (21 HBe+)

☒ Séquençage direct

☒ 38% de mutations gène HBs - 24% déterminant "a"

Déterminant a	Mutants (10 - 24%)	Sauvage (32 - 76%)	p
Age	40 ± 17	37 ± 17	0.17
Genre M/F	6/4	17/15	1
Ag HBe	40%	72%	0.13
Anti-HBe	80%	38%	0.03
Anti-HBs	60%	16%	0.01
ALAT (UI/L)	119 ± 92	105 ± 174	0.16
Pol (cpm)	23 (0-9700)	160 (0-10,528)	0.1

✓ Analyse multivariée :

➤ anti-HBs (OR= 2.43)

✓ Fréquence + importante de mutations dans le déterminant "a" vs. autres régions

✓ Position **I126** surtout affectée

✓ 1 seul variant **G145R**

✓ Mutations plus fréquentes dans la 1ère boucle vs. la seconde

✓ Pas de mutation "YMDD"

➤ Ogura et al. JID 1999;180:1444

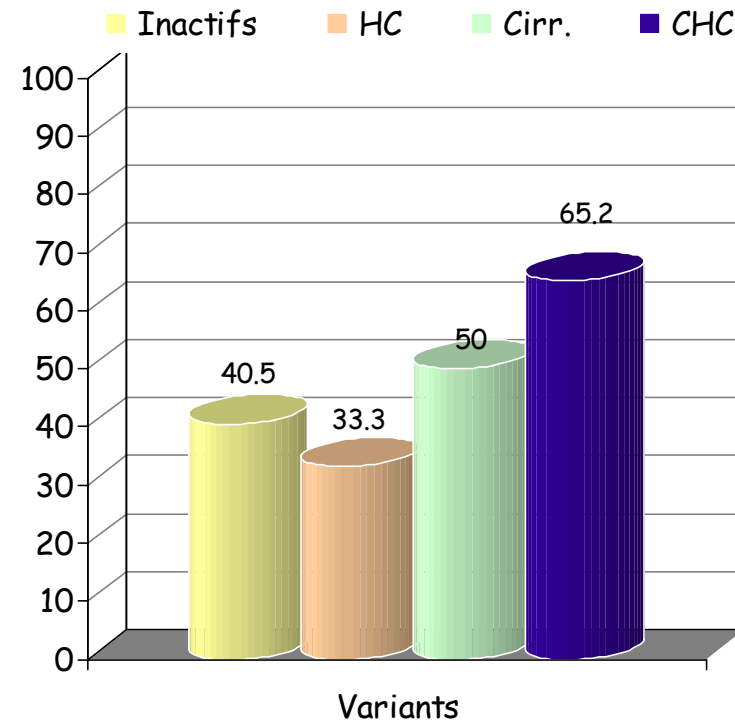
## Les variants HBs, quelle prévalence ?

- 101 patients hépatite B chronique
  - ⊠ 51 HBe+,
  - ⊠ 37 inactifs, 21 HC, 23 Cir., 23 CHC
  - ⊠ Séquençage

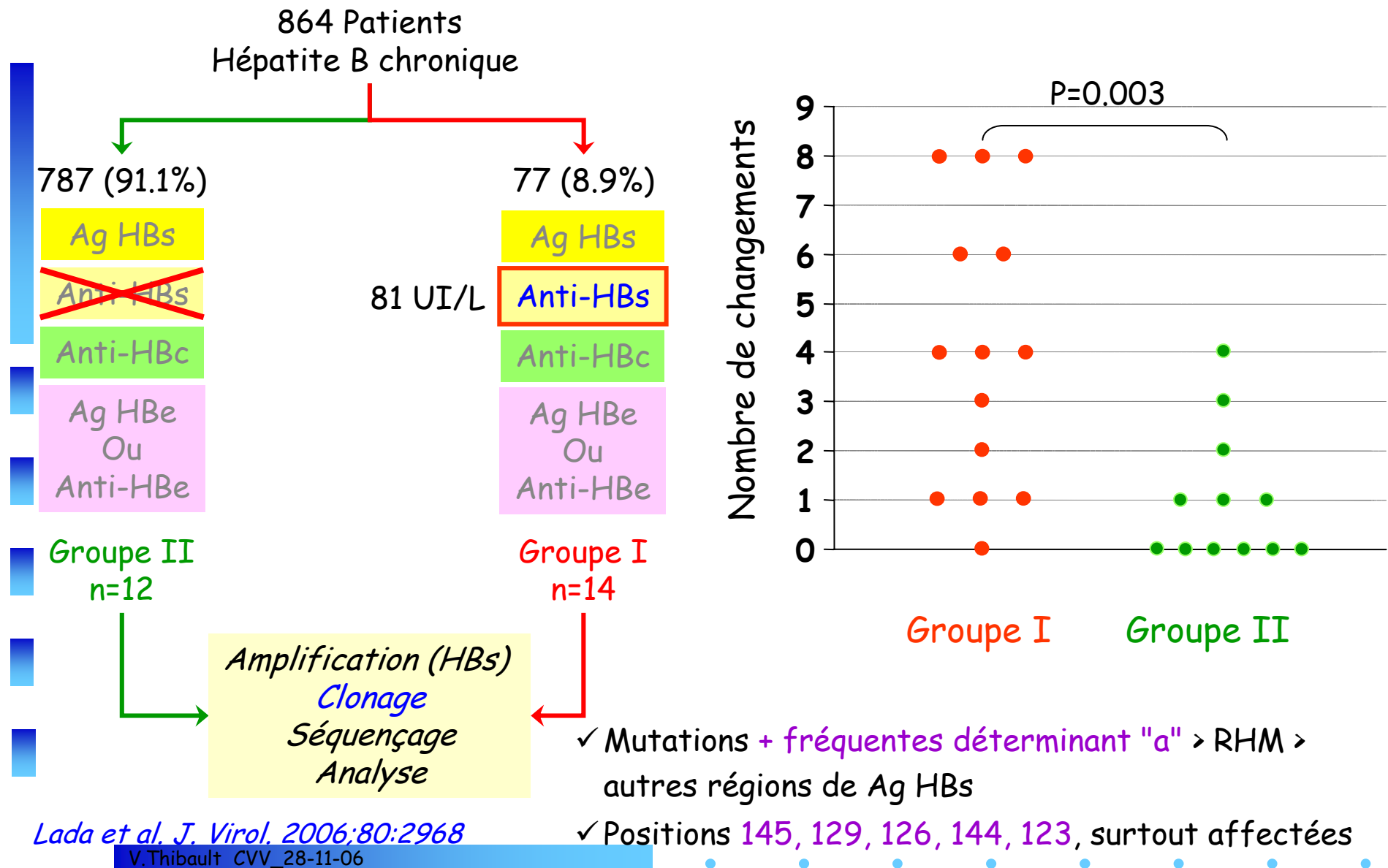
RHM	Sauvages (53 - 53%)	Variants (47 - 47%)	p
Age	44.7 ± 17	48.2 ± 17	0.21
Genre M/F	39/15	37/10	0.59
Ag HBe	57%	43%	0.08
ALAT (IU/mL)	83.5	61.1	0.26
HBVDNA	166.8	53	0.39

➤ Song et al. J Med Virol 2005;76:194

- ✓ Fréquence + importante de mutations pour AgHBe - (42 vs. 23%; p=0.048)
- ✓ Positions I126, 113, 131, 130 surtout affectées
- ✓ 2 mutants G145A



*Porteurs chroniques AgHBs + et Anti-HBs :*  
*association de nombreux changements d'acides aminés sur la protéine s*



Lada et al. J. Virol. 2006;80:2968

V.Thibault CVV\_28-11-06



## *Variants Ag HBs et tests diagnostiques*

# Impact sur les tests diagnostiques

	Moerman		La Ulu		Weber		Scheiblaue			Ly		Kuhns		SCORE
	Nat. (4)	Rec. (9)	Nat. (3)	Rec. (9)	Nat. (13-dil)	Rec. (27)	Nat. (5)	Abbott (9)	Roche (15)	Nat. (17)	Rec. (12)	Nat. (2)	Rec. (5)	
ADVIA Centaur	100	20	11	44				20		28		0	64	40%
ARCHITECT HBsAg			100	100			100	100	100					100%
Auszyme Monoclonal			100	100								100		100%
AxSYM	100	100	100	100	100	100		100		89	69	100	100	98%
Bioelisa HBsAg colour							100	100	100					100%
Elecsys	0	20					64	20						42%
Enzygnost HBsAg 5.0							64	44	83					79%
ETI-MAK-4							100	100	100					100%
Hepanostika HBsAg Uni-Form							100		84					96%
Immulate 2000 HBsAg							100							100%
Liaison (Dia-Sorin)										89	100			97%
Monolisa Ag HBs Plus Ultra							100	100	100	89	100			99%
Murex HBsAg Version 3							100	100	100					100%
ORTHO HBsAg ELISA TS 3			0	11			16		33			0	36	32%
Vidas AgHBs Ultra					59	100				89	100			93%
Vitros ECi	0	11	0	11								0	36	21%

Moerman et al. Clin Lab 2004 50:159-162

La 'ulu & Roberts Am J Pathol 2006;125:748

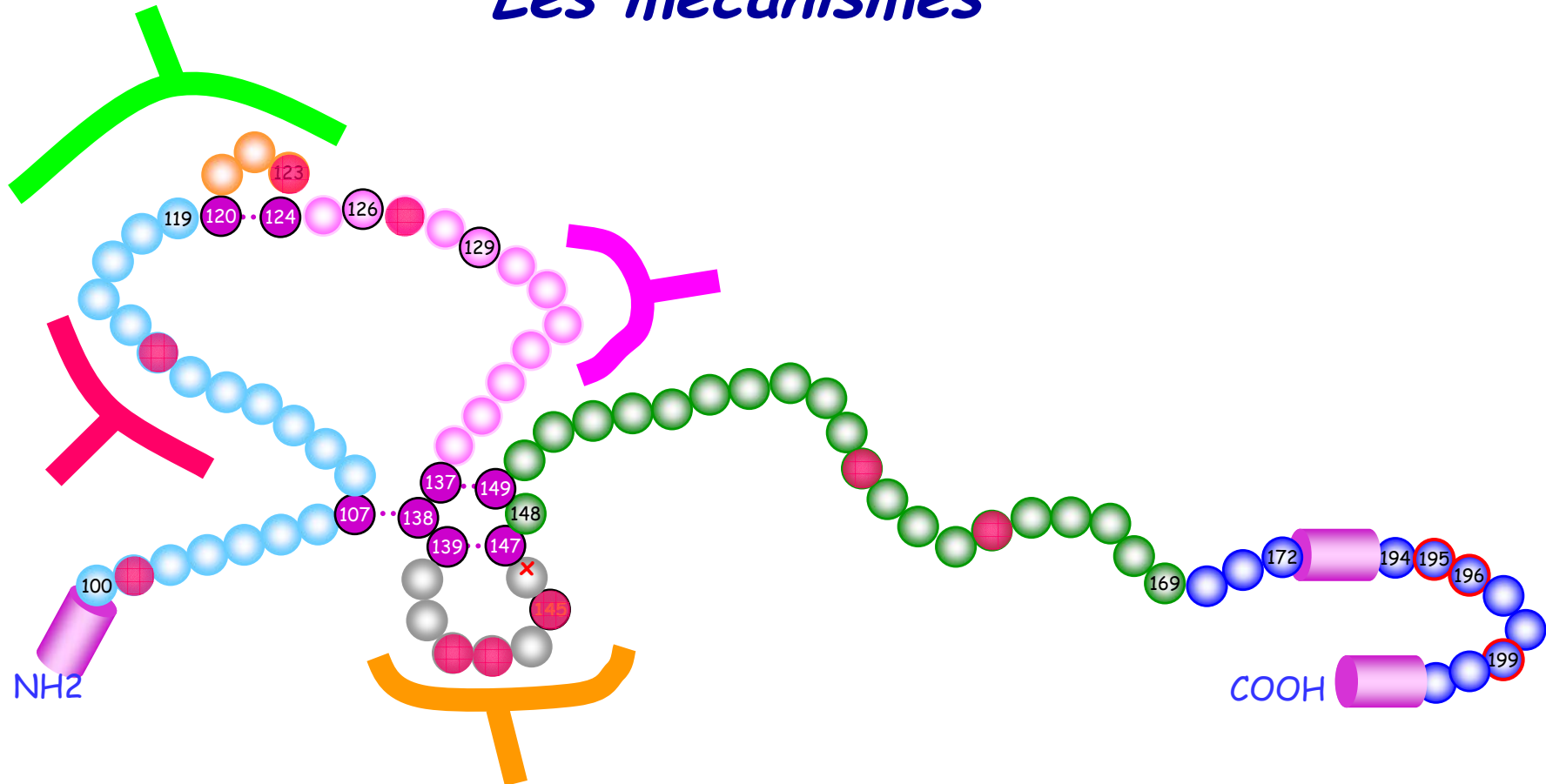
Weber et al. J Virol Methods. 2006 Jul;135(1):109-17

Scheiblaue et al. J Med Virol 2006;78:566

Ly et al. J Clin Microb. 2006;44:2321

Kuhns et al. 2006 AACC 23-07-2006

## *Les mécanismes*



- ✓ En fonction de l'épitope cible choisi, les tests peuvent être sensibles à certaines mutations.
- ✓ Le choix de travailler sur plusieurs boucles antigéniques et avec des anticorps polyclonaux est certainement un gage de fiabilité.



## *Variants Ag HBs et risque de transmission*

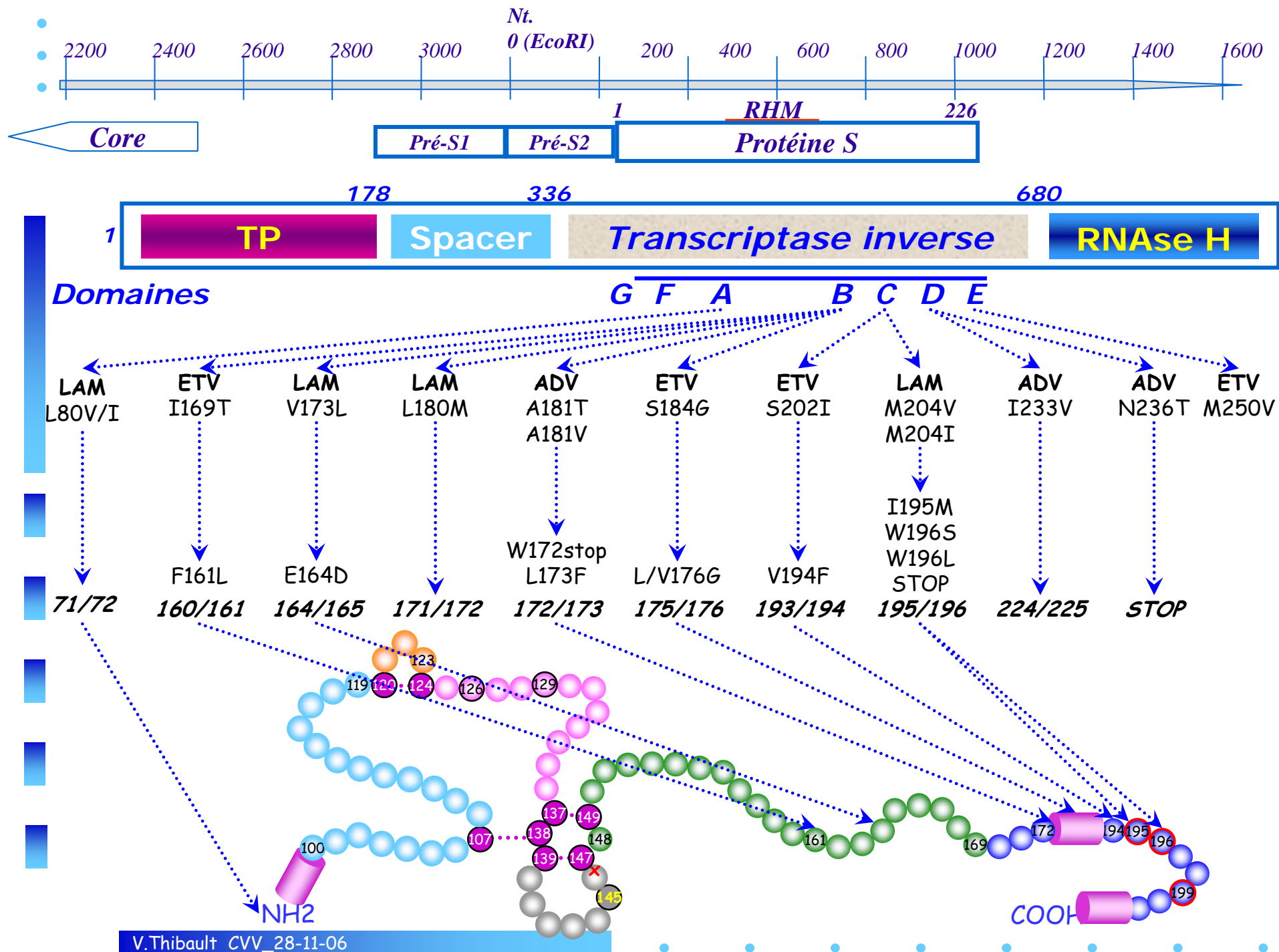


# Transmission ?

- Cas de transmission enfant-mère-enfants vaccinés [Chen et al. *J Clin Microb.* 2000;38:938]
  - ⊗ Mutation N144A chez 1 jumeau - wt chez second jumeau
- 1 cas transplanté rénal [Lu and Lorentz *JID* 2003;187:1323]
  - ⊗ Multiples mutations déterminant "a" (K160N)
- 5 Cas hépatites B "occultes" post transfusionnelles (Taiwan) [Liu et al. *J. Hepatol* 2006;44:39]
  - ⊗ 2 enfants G145R mais pas d'étude phylogénétique (absence séq. Donneurs)
- Etude (Inde) index (28)-cas (72) [faiblesse tests sérologiques] [Datta et al. *J Med Virol.* 2006;78:53]
  - ⊗ Détection HBVDNA et Ag HBs négatif chez 15 cas (10 index) - séquençage
  - ⊗ Transmissions extra- et intra- familiales (phylogénie)
  - ⊗ 9 cas: mutations déterminant "a"; 3 cas G145R non présent chez index
- Etude familiale (Inde) index (1)-cas (11) [Takhur et al. *J Med Virol* 2005;76:40]
  - ⊗ 5 cas : 4 intrafamiliaux (dont 2 G145R non-vac.) et 1 (G145R) extrafamilial
  - ⊗ A noter 3 cas G145R, T118V, T143M [cas index T118V/T143M]



## *Traitement par analogues et variants Ag HBs*



## Conclusion

➤ Les variants de l'Ag HBs existent !

✓ 17 % (ville) - 27% (hôpital) de variants de la région 102-169

(Roque-Afonso-EASL 2006)

➤ L'émergence des variants est favorisée par une intervention thérapeutique : vaccination de masse dans les pays de forte endémie ou en situation particulière HBIg (greffe hépatique), traitements par analogues.

⊗ Exceptionnellement sélection d'une souche particulièrement agressive.  
[Kalinina, *Hepatology* 2001;34:385]

➤ L'histoire naturelle de l'hépatite B chronique et les défenses immunitaires naturelles conditionnent la sélection de variants dans des régions immunogènes (épitopes B ou T).

➤ Certains variants ont la capacité d'émerger mais :

⊗ Défaut de sécrétion hors de la cellule G145R [Kalinina, *Hepatology* 2003;38:1274]

⊗ Défaut de liaison au récepteur

⊗ Possibilité de trans-complémentation...

## En pratique !

- Une majorité de variants (sélection naturelle) est correctement détectée par la majorité des tests sérologiques.
- Même si certains tests sérologiques commercialisés ont montré leur supériorité par rapport à d'autres pour **certaines** mutations, la **vigilance est recommandée**
  - ✓ Un test sérologique ne peut prétendre avoir la "meilleure" sensibilité et la détection "parfaite" des variants...
- Une cytolysse inexpliquée peut justifier le recours à une **recherche du génome** du VHB par biologie moléculaire
  - ☒ penser également aux autres marqueurs sérologiques du VHB...
- L'émergence de variants est un phénomène d'échappement du virus aux conditions hostiles qui est en **perpétuelle évolution**...

# Mise en place d'un Observatoire moléculaire des hépatites B aiguës

Soutenu par



Travail en collaboration avec :



**CNR Hépatites Virales**



Virologie  
GH Pitié-Salpêtrière

## Objectifs :

Décrire l'épidémiologie moléculaire des infections aiguës par le virus de l'hépatite B

- Géotypes circulants
- Mutants "pré-core" - Variants "HBs"
- Résistance aux antiviraux
- Liens épidémiologiques souches / âge, sexe, modes de transmission...

## Méthodologie :

- Collecte d'aliquots contemporains de la déclaration obligatoire
- Séquençage complet de la souche responsable de l'infection aiguë et analyse des mutations.

## Calendrier :

Envoi d'un courrier d'information début 2007

Début des collectes Janvier 2007

Durée d'étude prévue : 1 an

V. Thibault - Annonce-B Aiguë

