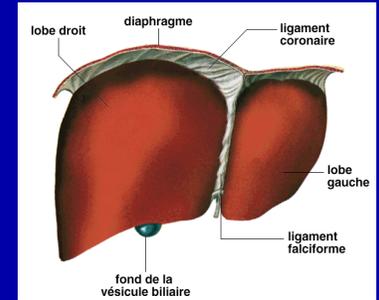
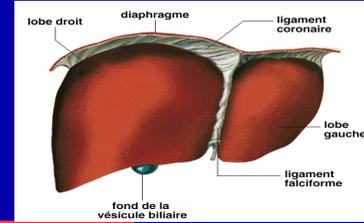


# VIRUS DE L'HEPATITE B



- Problème de santé publique.
- Incidence en Mauritanie = 74 % des individus ont été en contact avec le virus .
- Forte prévalence évaluée à 25%,
- ~ 350 millions de porteurs chroniques du VHB dans le monde.
- Principale cause de cancer primitif du foie, 1 à 2 millions de décès par an dans le monde.

# HBV: Modes de Transmission

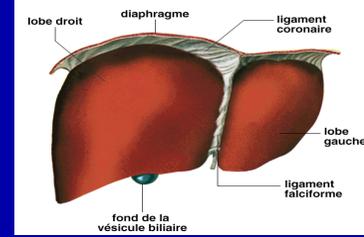


- Sexuelle
- Parentérale
- Périnatale



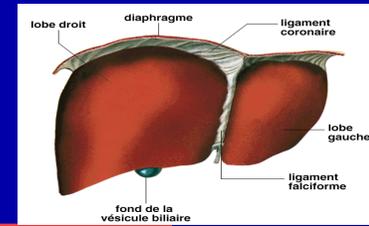
# HBV: Modes de Transmission

---



- Horizontale : contage
- Nosocomiale

# HBV: Modes de Transmission



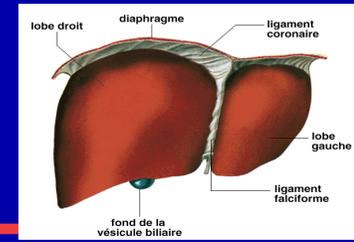
- Transmission Parentérale :

- Transfusion
- Produits dérivés du sang
- Hémodialyse
- Toxicomanie (partage de seringue...)
- Tatouage – Piercing (acupuncture)
- Activité professionnelle

(blessure par du matériel souillé par du sang contaminé, piqûres d'aiguilles, projections...)

Risque d'acquérir un infection VHB par piqûre ou blessure = 20-30%

# HBV: Modes de Transmission

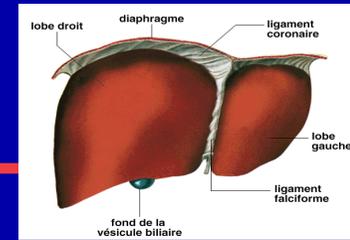


- Transmission sexuelle :

- Partenaire présentant une infection VHB aigue ou chronique.
- Polygamies
- Hétéro ou homosexuelle.

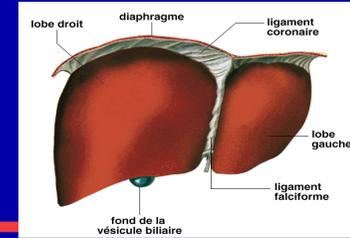
Risque d'acquérir une infection VHB par voie sexuelle = 30-80%

# HBV: Modes de Transmission



- Transmission verticale :
  - Plutôt périnatale qu'in utero.
  - Importante dans les pays en voie de développement.
  - En Mauritanie : 18,3 % des femmes enceintes sont porteuses de l'Ag HBs :
  - Risque de transmission fonction du statut de la mère:
    - ~100% si la mère est Ag HBs+ et Ag HBe + et ADN +
    - 10-20% si la mère est Ag HBs+ et Ag HBe - et ADN -
    - < 10% si la mère est Ag HBs -
  - Post natale = allaitement

# HBV: Modes de Transmission

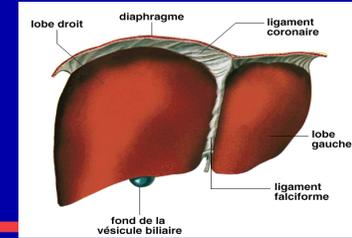


- Transmission Horizontale :

résulte d'un contact proche avec des patients contagieux

- Enfants – enfants (morsures, crachats...)
- Famille (partage d'objets de la vie quotidienne: rasoir, brosse à dent, coupe ongle...)
  - incidence : 5 %
  - Au sein d'un même foyer :risque d'infection 11 fois plus important que dans la population générale.
- Personnes à personnes (vaccination de masse dans les pays en voie de développement, individus en institution...)
  - Institutions (handicapés, milieu carcéral...) : marqueurs de l'hépatite B : 30-40 %.
  - Séjour en zone de forte endémie : risque de contamination évalué à 1/25000 ; augmente avec la longueur du séjour.

# Concentration du VHB dans les fluides corporels



**Elevée**

sang

sérum

exsudats

blessures

**Modérée**

sperme

secrétions vaginales

salive

**Basse / non  
détectable**

urines

selles

sueur

larmes

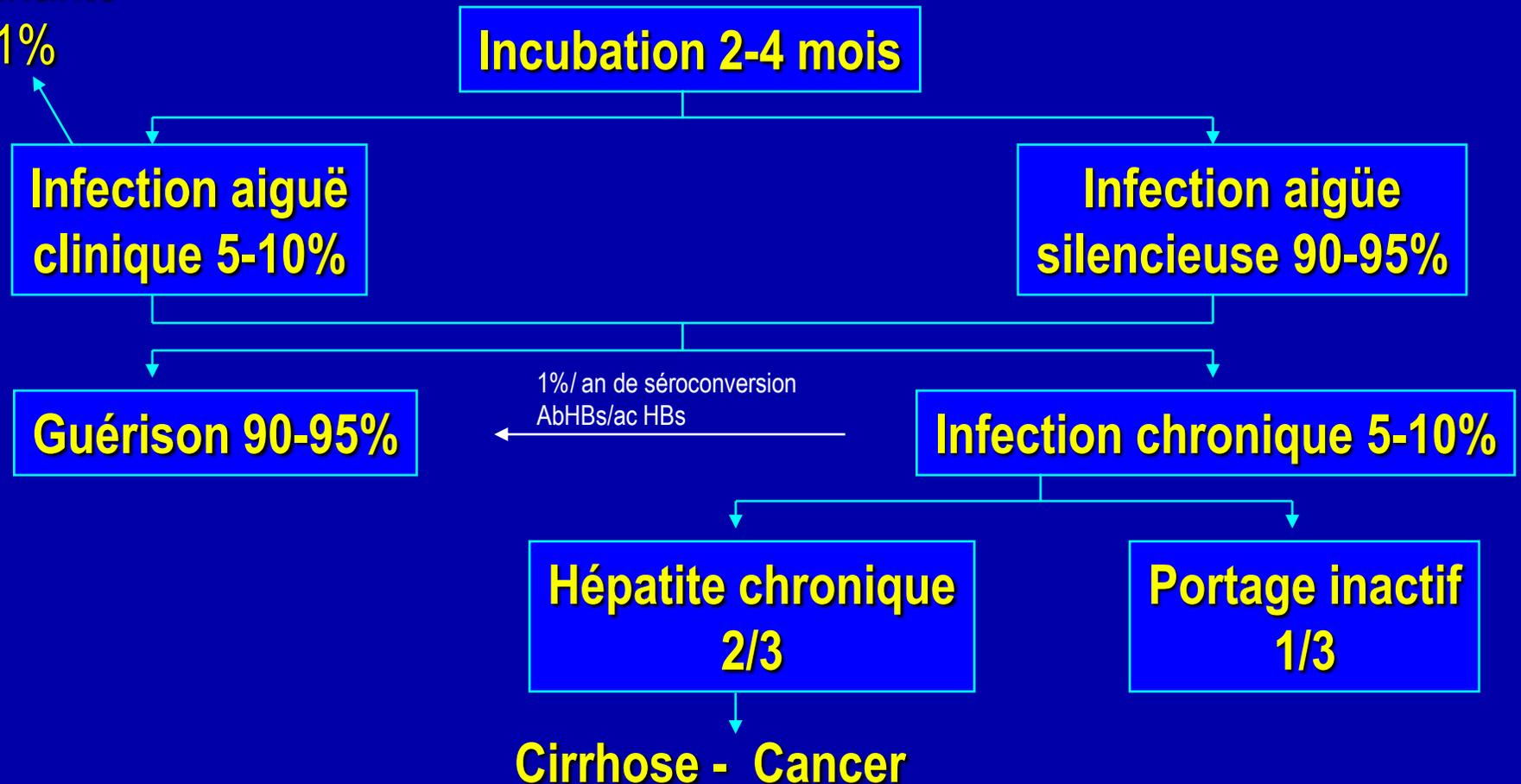
lait maternel

*! Grande résistance dans le milieu extérieur (permettant les transmissions horizontales dans l'entourage proche d'un patient contaminé).*

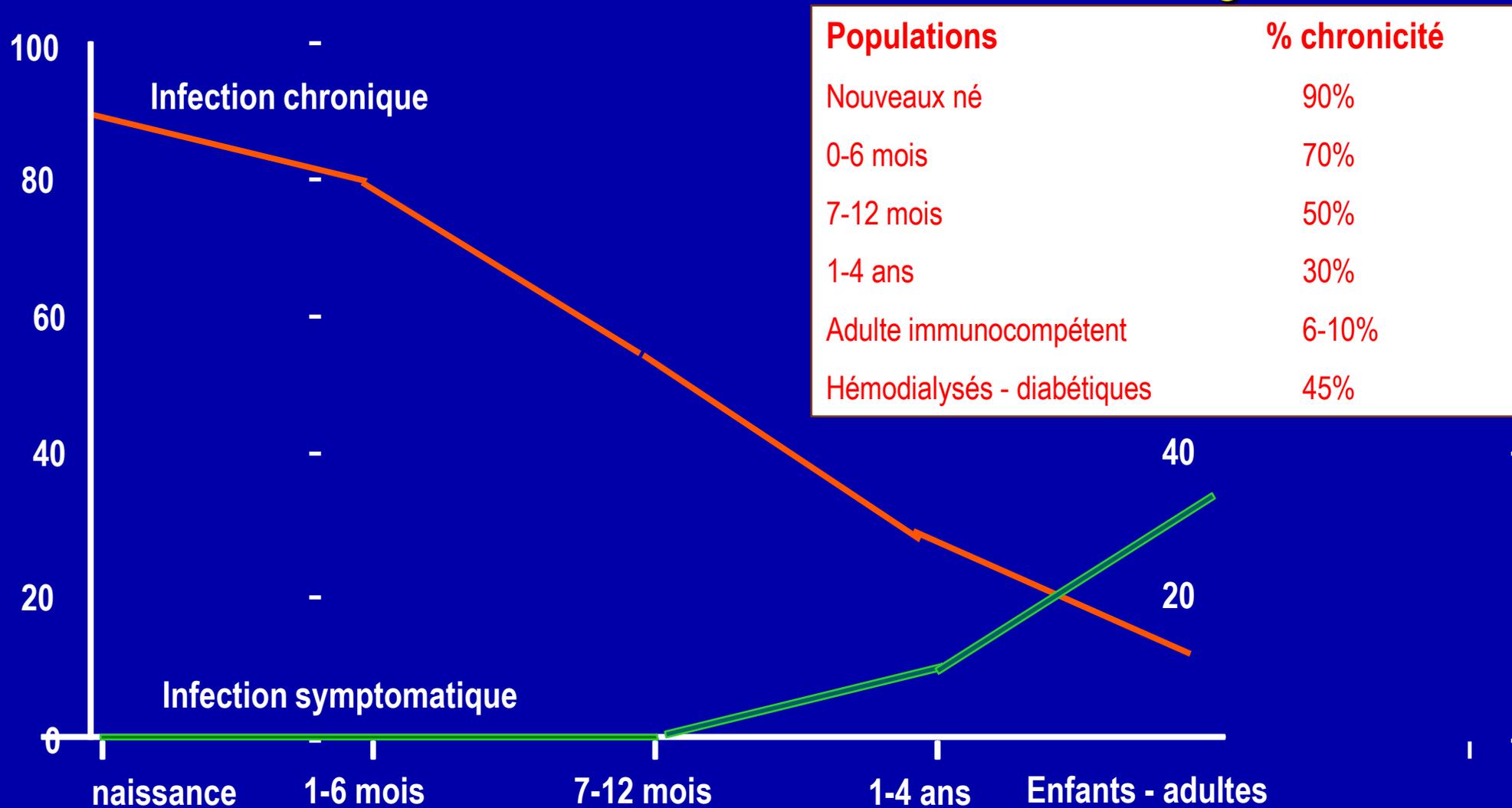
# Virus de l'hépatite B

## Histoire naturelle

Décès 80%  
↑  
Hépatite  
Fulminante  
↑  
< 1%



# VHB : histoire naturelle en fonction de l'âge



# Caractéristiques du virus :

## Classification

- Prototype de la famille des *Hepadnaviridae*.

(virus de la marmotte, du canard de pékin, du héron, ...)

- Les plus petit virus à ADN connus.
- Virus enveloppé.
- Cible cellulaire
  - Hépatotrope
  - Lymphotrope.

# Caractéristiques du virus :

## Propriétés physico-chimiques

### Résistance :

- Virus extrêmement résistant dans le milieu extérieur.
- Résistant à la dessiccation, à la chaleur (10h à 60°C, 5mn à 100°C).
- Pouvoir infectieux intact des années à – 20°C.
- stable à pH 2,4 pendant 6 heures
- résistant à l'éther, l'alcool à 90°C

### Décontamination :

- Inactivé après quelques minutes à 100°C.
- Inactivé au contact d'une solution d'hypochlorite de Na à 5% (2h)
- Glutaraldéhyde (2h)

# Caractéristiques du virus :

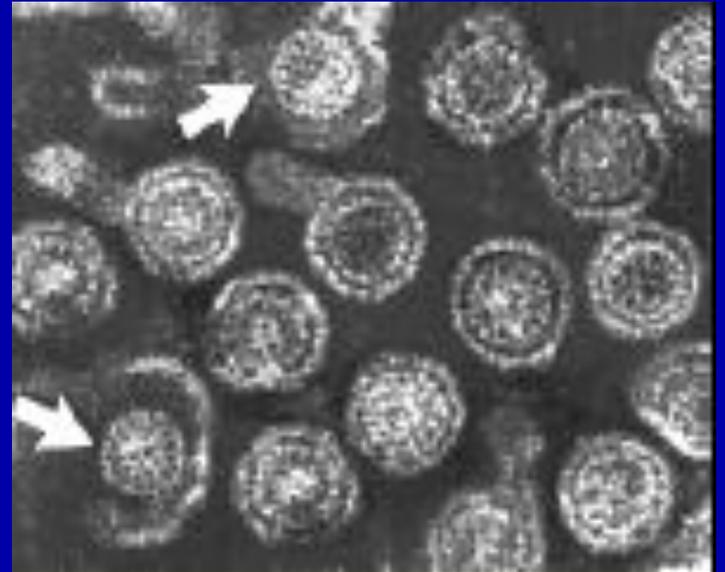
## Morphologie

- En microscopie électronique:

→ Particules sphériques (42 nm)  
= virions (particule de Dane).

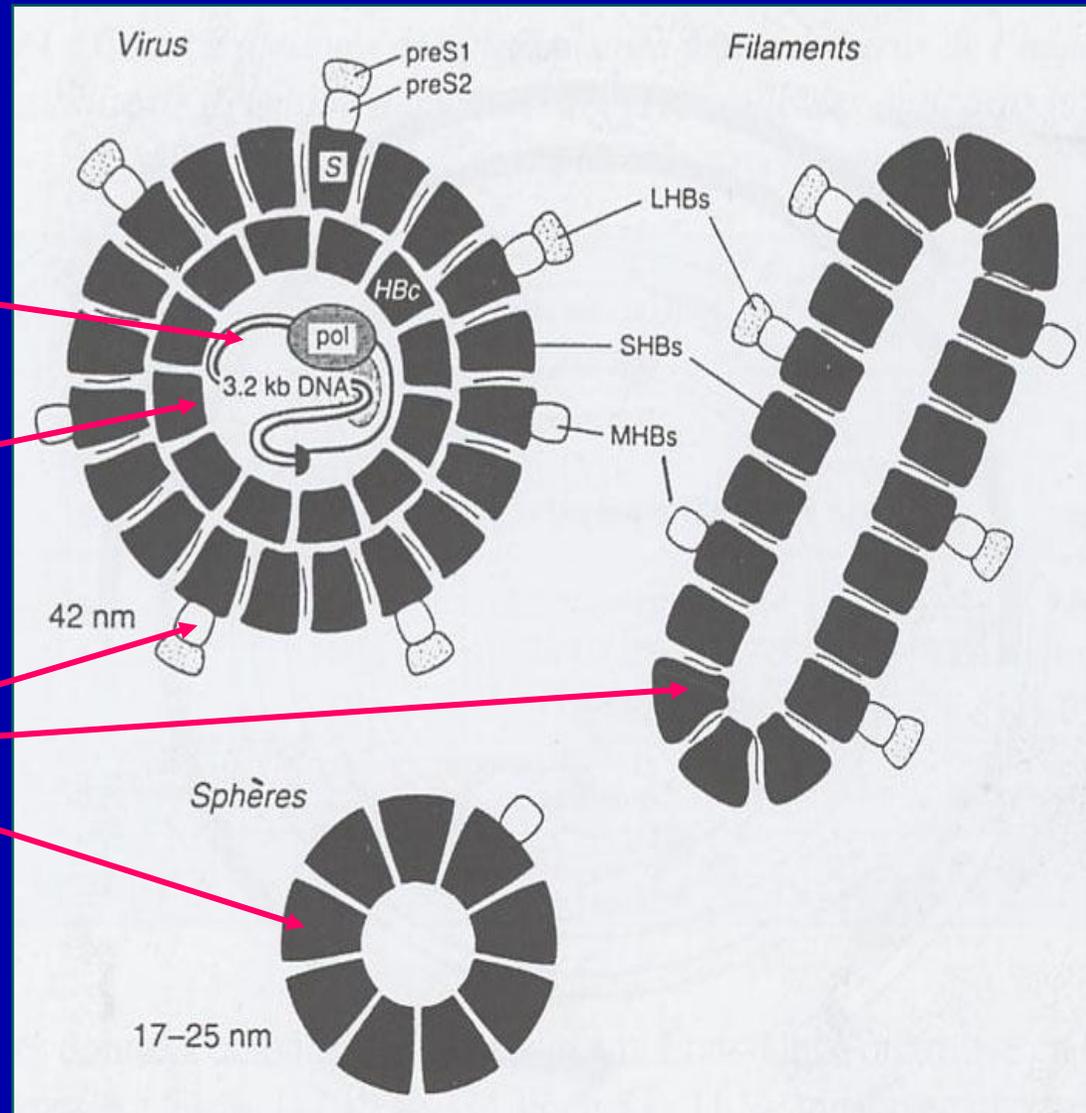
→ Particules sphériques (22 nm)

→ Particules en forme de bâtonnet



# Caractéristiques du virus : représentation schématique

- Génome
  - DNA + enzymes
- Nucléocapside = core
  - AgHBc (hépatocyte)
  - Ag HBe (sang)
- Enveloppe
  - Prot. Majeure = AgHBs
  - Grande prot. : Ag préS1
  - Prot. Moyenne : Ag préS2

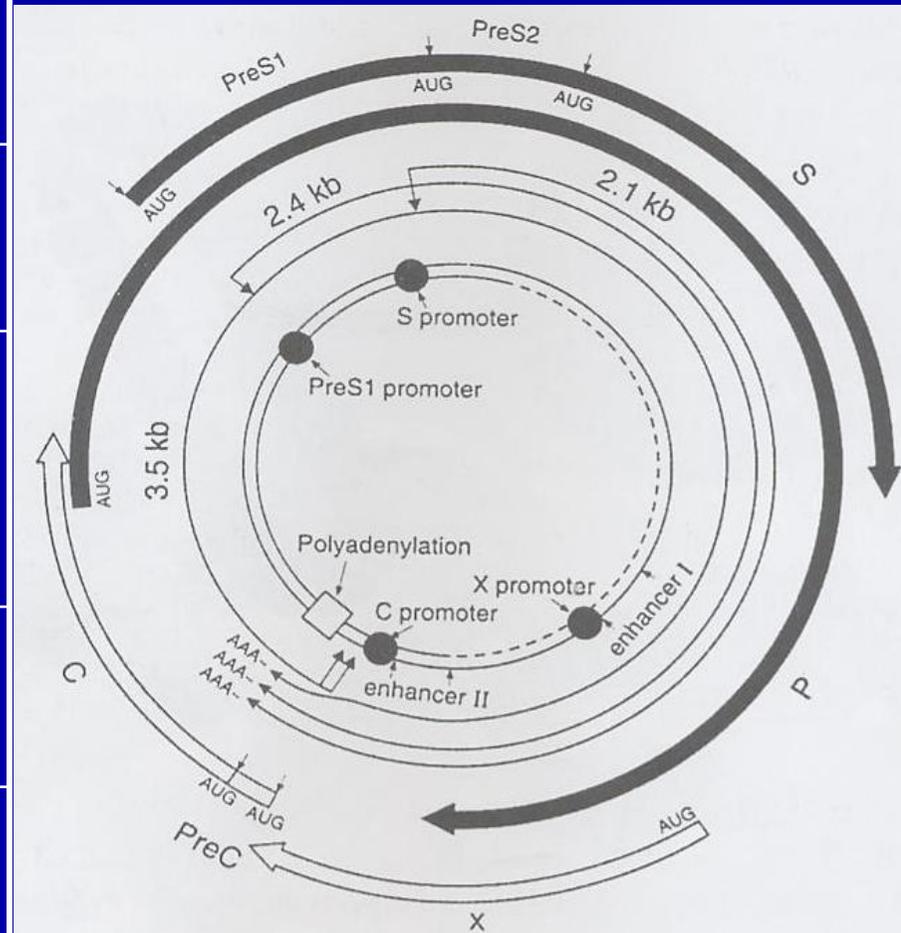


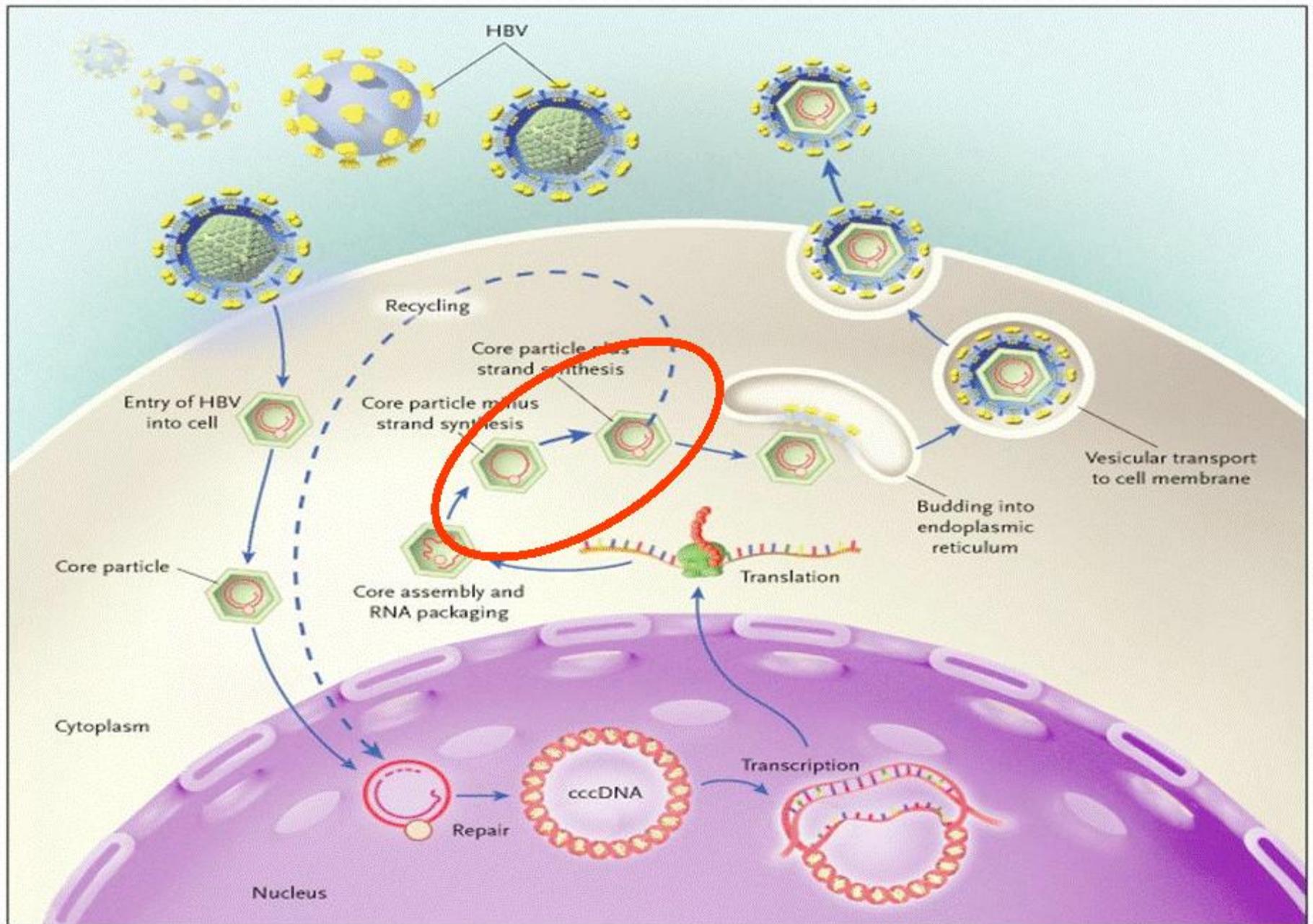
# Caractéristiques du virus :

## Organisation génétique

ADN circulaire partiellement bicaténaire de 3200 nt.

| Gène | fonction         | Protéine                      | Antigènes<br>Détection                                   | Anticorps<br>détectables |
|------|------------------|-------------------------------|--|--------------------------|
| C    | capside          | C<br>Pré C/C                  | NON (Ag HBc)<br>OUI (Ag HBe)                             | Anti HBc<br>Anti-HBe     |
| S    | enveloppe        | Pré-S2<br><br>Pré-S1<br><br>S | OUI (Ag HB-pré S2)<br>OUI (Ag HB-pré S1)<br>OUI (Ag HBs) | Anti HBs                 |
| P    | ADN Pol          | pol                           | OUI  | Anti pol                 |
| X    | Trans-activation | X                             | NON  | Anti HBx                 |





# Caractéristiques du virus :

## Polymérase Virale



### Particularités-propriétés

- ✓ Activité ADN polymérase ADN/ARN dépendante. Analogies avec reverse transcriptase HIV. Activité RNAse H
- ✓ Génère des erreurs lors de la réplication ( $10^{-5}$  substitutions par sites)
- ✓ Sous traitement émergence de mutants pour la partie reverse transcriptase de la polymérase

# Caractéristiques du virus :

## Variabilité

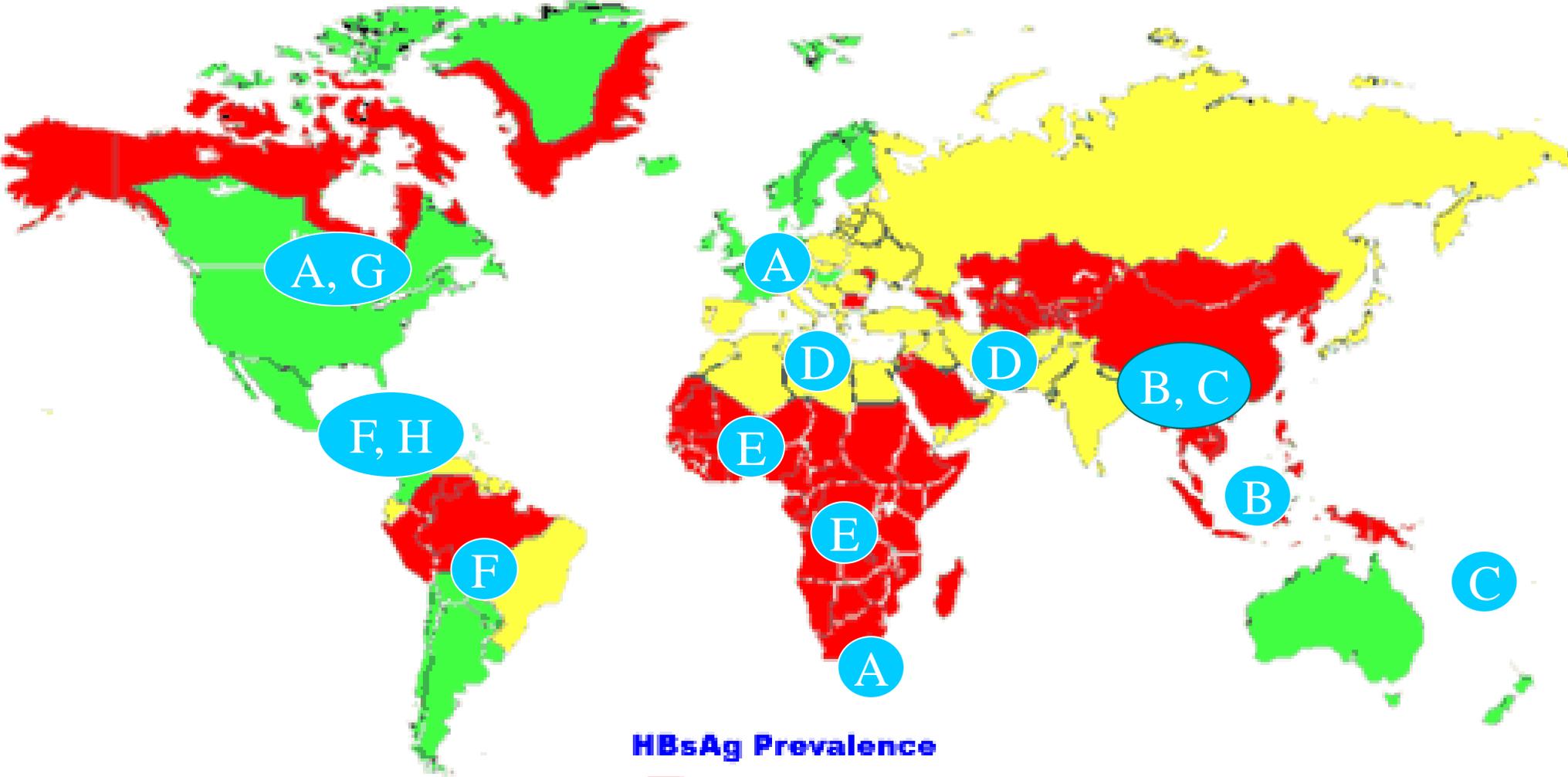
### 8 Génotypes : A → H

- Europe : prédominance du A et D
- Bassin Méditerranéen : D et E
- Asie : E et F

### Variants associés à des mutations ponctuelles

- AgHBc : mutant pré-core (de novo, évolution naturelle)
- Ag HBs (vaccinés, receveurs d 'Ig anti-HBs, de novo)
- Polymérase (antiviraux)

# Geographic Distribution of Chronic HBV Infection



### HBsAg Prevalence

- ≥8% - High
- 2-7% - Intermediate
- <2% - Low

# DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE :

## Diagnostic direct

- Recherche du génome
  - Hybridation moléculaire (sondes) seuil = 2 pg/ml ou  $10^6$  copies/ml
  - PCR , plus sensible, recherche de variants, seuil = 200 copies/ml (monitor Roche).
- Recherche sérique d'antigènes viraux
  - Ag HBs
  - Ag HBe

# DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE :

## Diagnostic direct : détection de l'ADN viral

**Indications :** évaluation du potentiel répliatif  
monitoring d'un traitement  
sérologie atypique

|   | <b>technique</b>    | <b>Seuil de détection</b>                               |   |
|---|---------------------|---|---|
| Digene HBV test<br>Hybrid capture<br>(Abbott) | hybridation         | $7 \cdot 10^5$ copies/ml<br>(US : $4 \cdot 10^3$ cp/ml) | Quantitatif<br>CV = 5,5%<br>Sp = 99,2%  |
| Versant HBV DNA<br>assay (Bayer)              | bDNA<br>Hybridation | $7 \cdot 10^5$ copies/ml                                | Quantitatif<br>CV = 6,7%<br>Sp = 99,2 % |
| Amplicor HBV<br>Monitor                       | PCR core            | 200 copies/ml   | Quantitatif<br>CV = 21%<br>Sp = 97,8%   |

*Pawlotsky et al. J Virol Meth, 2000*

# DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE :

## Diagnostic indirect

- Ag HBs / anticorps anti-HBs
  - Ag HBs : technique ELISA seuil de détection : 0.1 à 0.5 ng/ml.
  - AntiHBs: titrage par technique ELISA, seuil protecteur = 10 UI/L (???)
- Anticorps anti-HBc
  - AntiHBc : technique ELISA dosage IgM ou Ig totaux
- Ag HBe / anticorps anti-Hbe
  - Ag HBe : technique ELISA
  - AntiHBe: technique ELISA

# DEMARCHE DIAGNOSTIQUE PRATIQUE

- NOMENCLATURE DES LABORATOIRES : prescription de 3 marqueurs maximum en fonction de la clinique

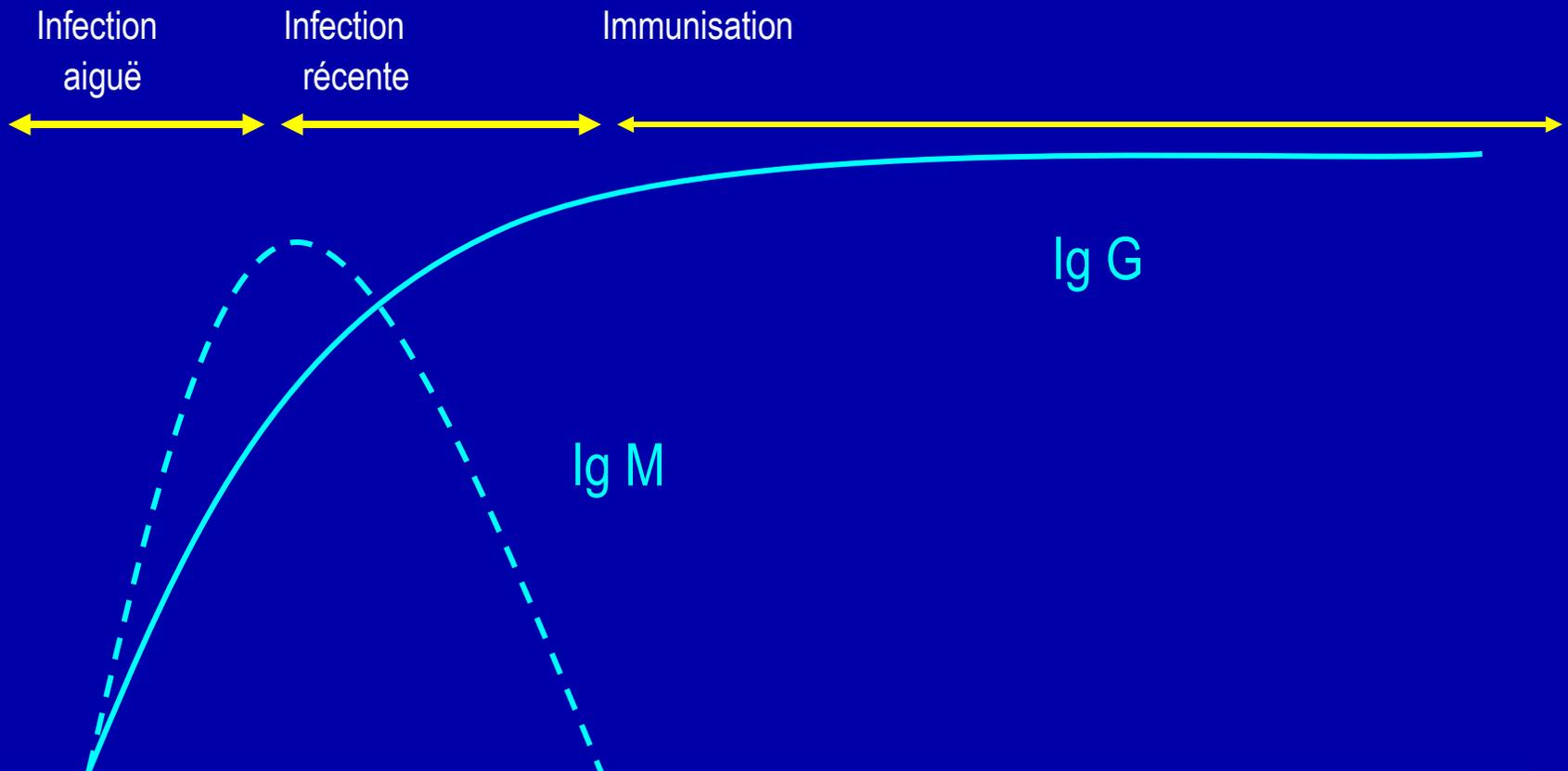
| <b>Populations</b>   | <b>Marqueurs de dépistage</b>   |
|----------------------|---------------------------------|
| Donneurs de sang     | AgHBs (1971)<br>Anti-HBc (1988) |
| Statut sérologique : | AgHBs + anti-HBc + [anti HBs]   |
| Femme enceinte       | AgHBs                           |
| Bilan pré-vaccinal   | Anti-HBc                        |
| Bilan post-vaccinal  | Titrage anti-HBs                |
| Suivi VHB chronique  | AgHBe, AchBe                    |

# DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE :

## Cinétique des marqueurs sériques : **Systeme « c »** ( capside )

*AgHBc non détecté dans le sérum*

*AchBc traduit un contact avec le VHB (IgM = infection récente / réactivation)*

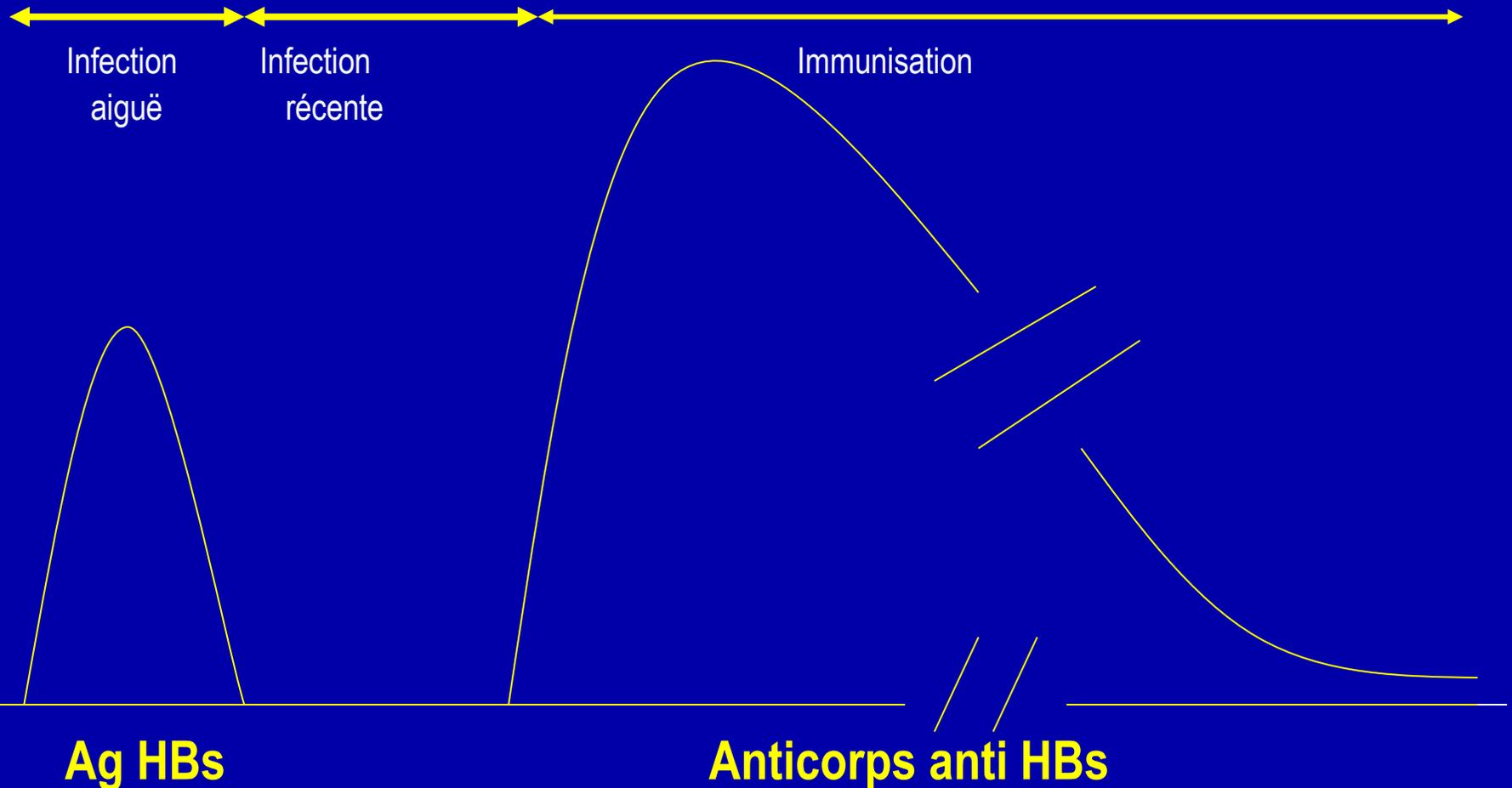


# DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE :

## Cinétique des marqueurs sériques : **Systeme « s » (surface)**

AgHBs produit en excès par rapport au virion

AcHBs traduit une guérison et une protection vis à vis d'une nouvelle infection

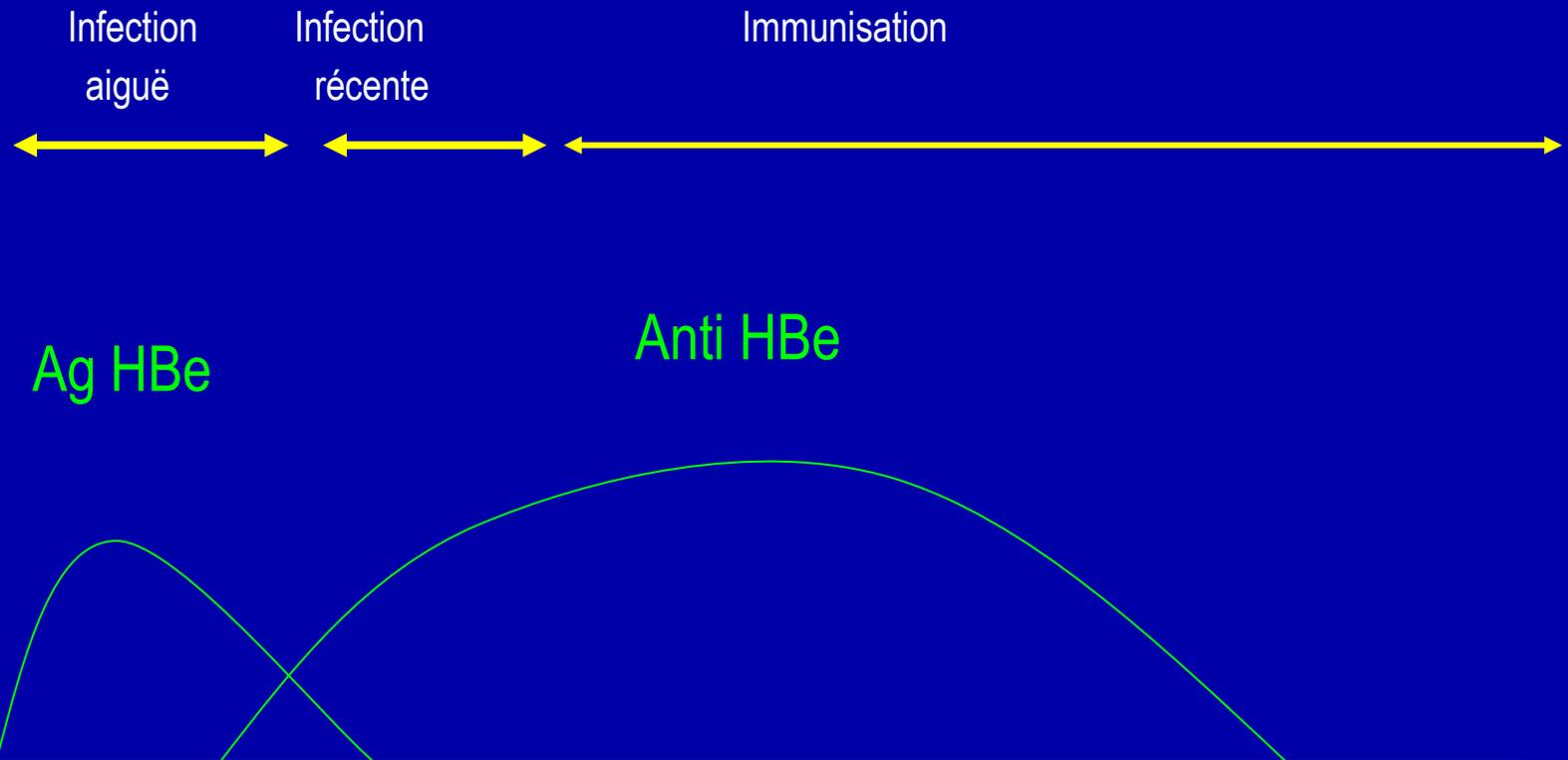


# DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE :

**Cinétique des marqueurs sériques : Système « e » (=réplication)**

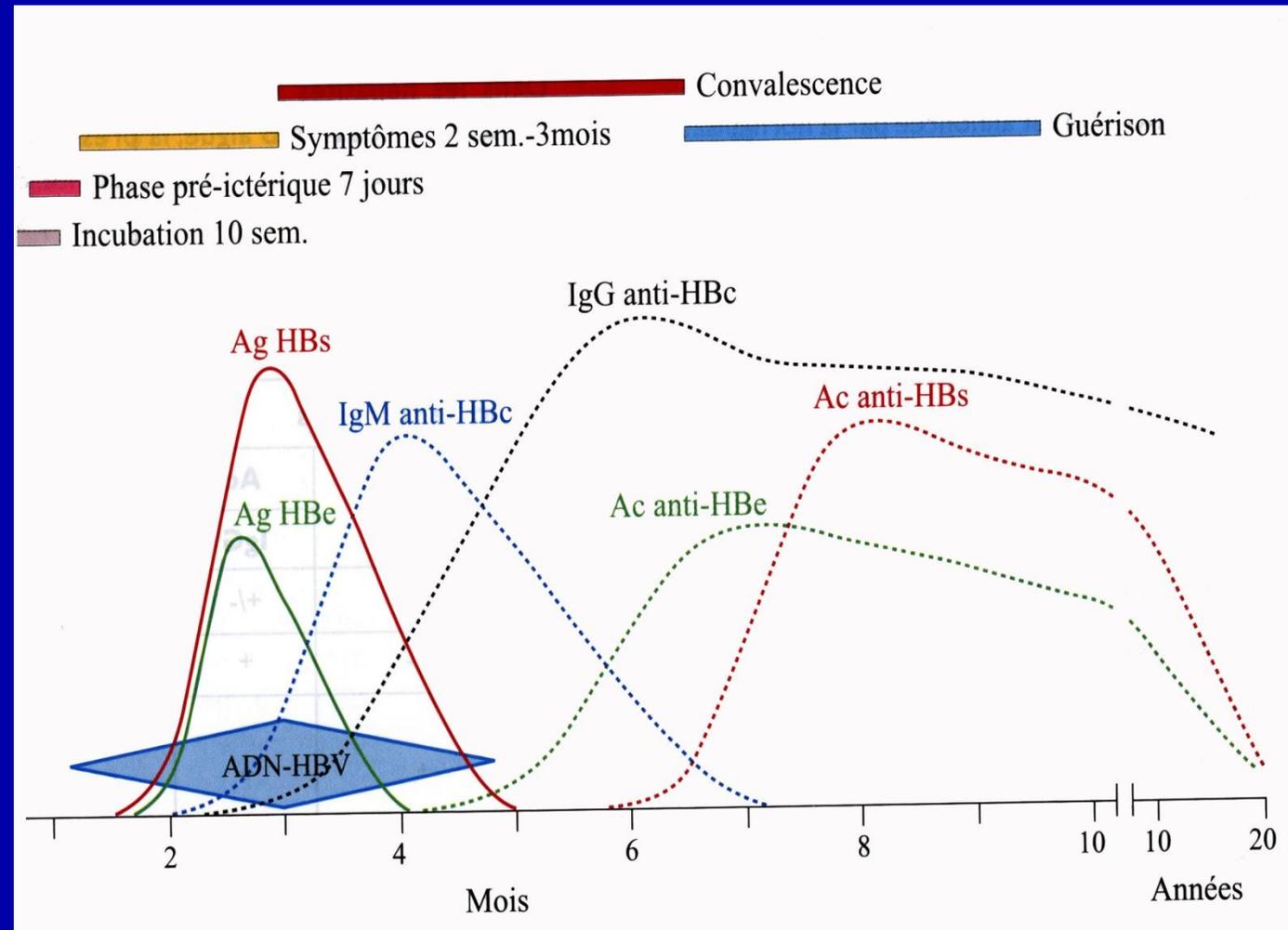
AgHBe = réplication virale et d'infectiosité

AcHBe traduit classiquement une évolution favorable



# DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE : PROFIL SEROLOGIQUE Hépatite aiguë résolutive

- Contage 1-3 mois.
- Ag HBs précède de 2-4 semaines ALAT et clinique.
- Anti HBc: pas de signification évolutive.
- Anti HBc IgM peuvent persister 1 an (70% des cas).
- Ag HBe = réplication virale.
- Séroconversion Hbe avant HBs



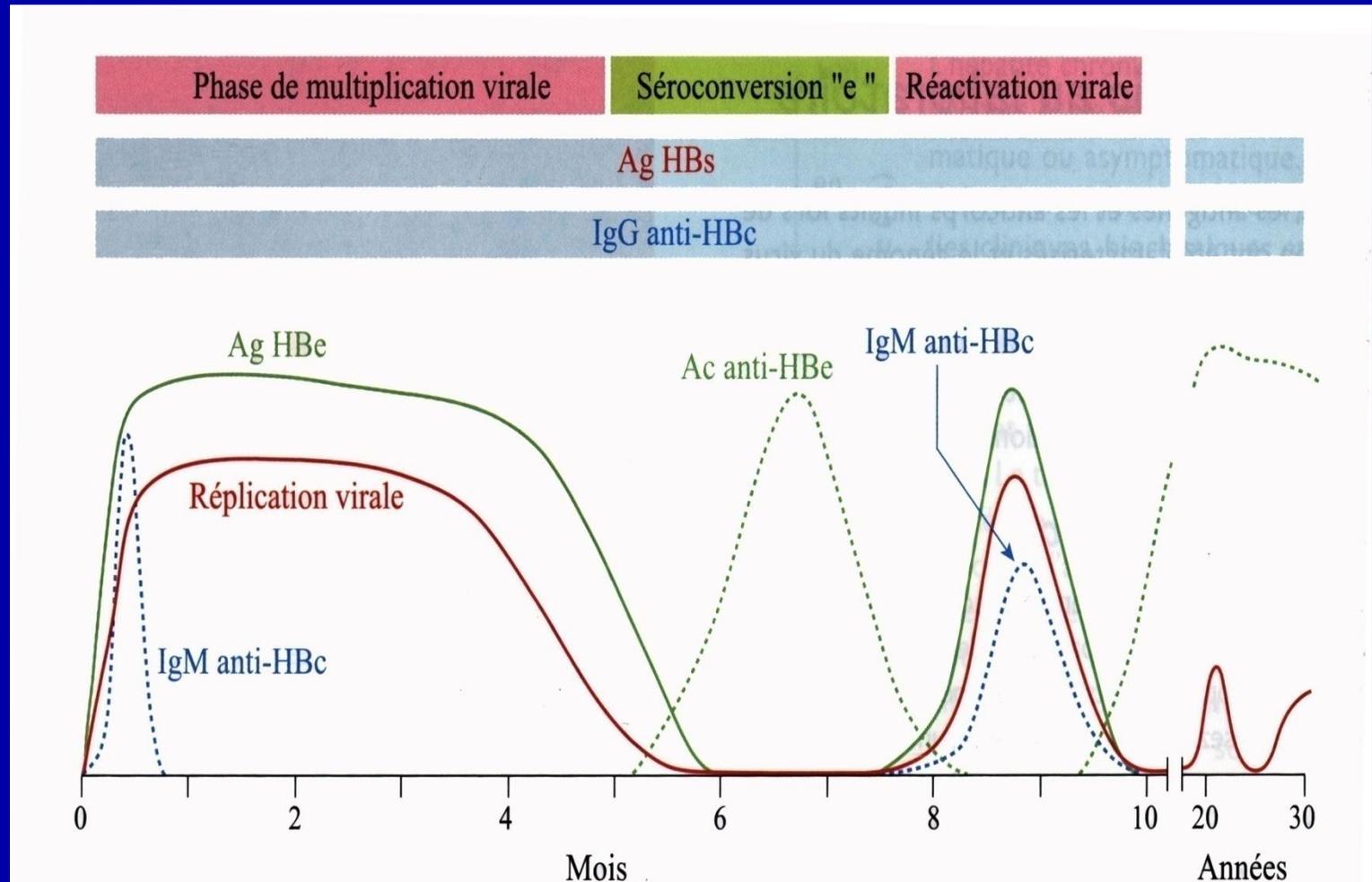
# DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE :

# PROFIL SEROLOGIQUE Hépatites chroniques

AgHBs > 6 mois

1<sup>ère</sup> séroconversion:  
système HBe.

2<sup>ème</sup> séroconversion:  
système HBs.



# DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE :

## Tableau général d'interprétation

21. Tableau 2. Récapitulatif des profils sérologiques les plus communs.

|                           | Marqueurs sérologiques |             |        |             |              |                    | ADN <sup>(2)</sup> |
|---------------------------|------------------------|-------------|--------|-------------|--------------|--------------------|--------------------|
|                           | Ag HBs <sup>(1)</sup>  | Ac anti-HBs | Ag HBe | Ac anti-HBe | Ac anti- HBc |                    |                    |
|                           |                        |             |        |             | IgG          | IgM                |                    |
| <b>Hépatite aiguë</b>     | +                      | -           | +      | -           | +/-          | +                  | +                  |
| <b>Hépatite guérie</b>    | -                      | +/-         | -      | +/-         | +            | -                  | -                  |
| <b>Hépatite chronique</b> |                        |             |        |             |              |                    |                    |
| - porteur " inactif "     | +                      | -           | -      | +           | +            | -                  | -                  |
| - séroconversion " e "    | +                      | -           | -      | +           | +            | -                  | -                  |
| - mutant pré-C            | +                      | -           | -      | +           | +            | -                  | +                  |
| <b>Réactivation</b>       | +                      | -           | +      | -           | +            | +/- <sup>(3)</sup> | +                  |

(1) En cas de résultat positif ou douteux pour l'Ag HBs, un contrôle doit être fait sur un nouveau prélèvement. (2) La détection de l'ADN de l'HBV dépend de la sensibilité du test utilisé. (3) Les IgM anti-HBc sont retrouvées de façon inconstante lors des réactivations.

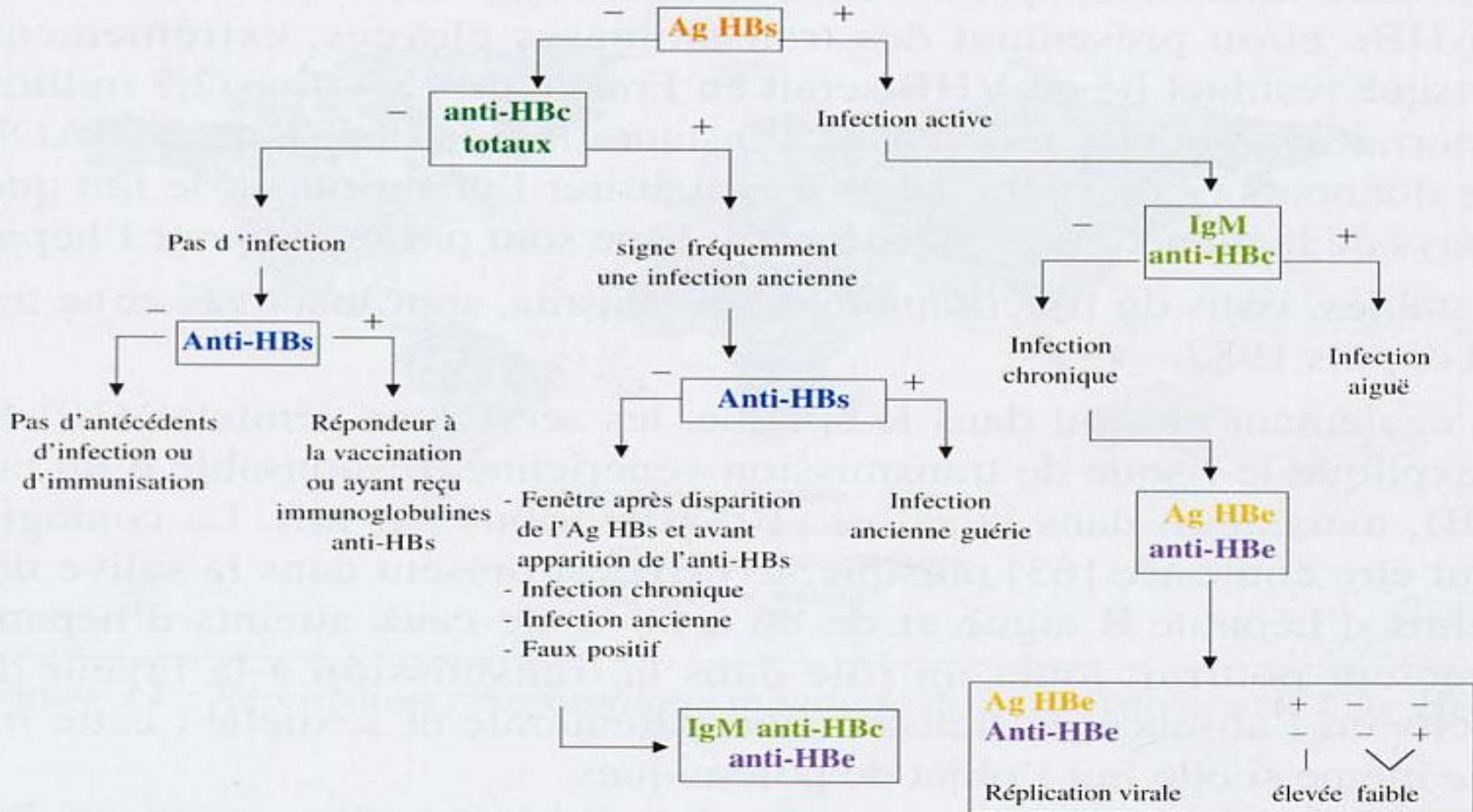
# DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE :

## Tableau général d'interprétation

| AgHBs | AcHBc | AcHBs | Demande         |                           |
|-------|-------|-------|-----------------|---------------------------|
| +     | -     | - (+) | neutralisation  | Vaccin Récent<br>FP AgHBs |
| +     | +     | -     | IgM HBc         | HBV +                     |
| -     | +     | +     | -               | <b>Guérison</b>           |
| -     | +     | -     | •Ac Hbe<br>•PCR | •guérison<br>•FP          |
| +     | +     | +     |                 | •Ac Hbe<br>•              |

# DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE :

## ALGORITHME DIAGNOSTIC SEROLOGIQUE



# DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE :

## PROFIL SEROLOGIQUE CAS PARTICULIERS

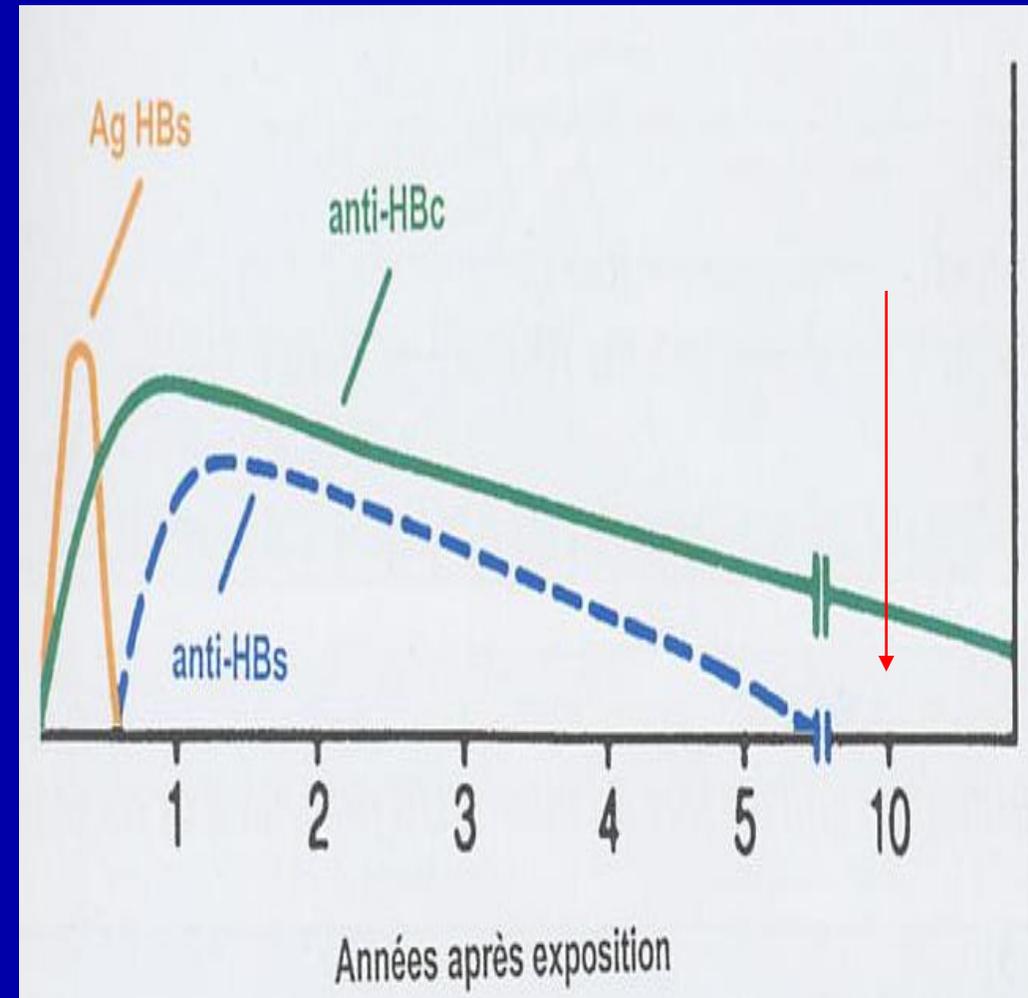
- 1) Ag HBs isolés :
  - Hépatite B en début d'infection (présence d'autres marqueurs sur un échantillon séquentiel).
  - Prélèvement dans les jours suivant une vaccination.
  - Faux positif Ag HBs, spécificité à confirmer par neutralisation.

# DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE :

## PROFIL SEROLOGIQUE CAS PARTICULIERS

### 2) Anticorps anti-HBc isolés :

- Infection récente :
  - Anti-HBc IgM +
  - Avant AgHBs (rare)
- Guérison en cours :
  - Après disparition AgHBs, avant Ac HBs
  - => AcHBe+
- Infection ancienne :
  - AcHBs-, AcHBe - (10-20% des cas)
  - Ac HBs-, AcHbe + (70% des cas)
  - AcHBs+, AcHBe + (90% des cas)
- Faux positif anti-HBc  
(complexes immuns, dysglobulinémie...)



# DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE :

## PROFIL SEROLOGIQUE CAS PARTICULIERS

- 3) Sujets vaccinés : Ac HBs >10 UI/l

Si nouveau contact avec le virus : pas d'hépatite

- Aucune modification du profil sérologique.
- Montée anamnésitique du titre de anti-HBs.
- Antigénémie HBs transitoire suivi de l'apparition d'anti-HBc et réascension du titre des anti-HBs.

# DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE :

## PROFIL SEROLOGIQUE CAS PARTICULIERS

- **Profils liés à des variants** : prévalence en augmentation
  - Mutation des régions pré-S et S, et pré-C et C
  - Lors d'hépatites aiguës ou chroniques.
  - Variants plus fréquents en Afrique et en Europe du Sud
- **Mutations pré-C/C**, profil observé:
  - AgHBs +, AgHBe -, anti HBe +, **ADN +**
- **Mutations pré-S/S**, profil observé:
  - AgHBs – avec **ADN +**

# Mutants et pression de sélection

- Pression naturelle
- Pression induite (thérapeutique) :
  - Vaccination - Immunothérapie : → Ag HBs
  - Traitement (Interféron) : → Core (Ag HBe)
  - Traitement (analogues nucléosidiques) : → POL

**Sélection d'une population virale la mieux adaptée à son environnement**

# VARIANTS DU GENE PRE C

- Décrits pour la première fois en 1981 en Italie (Bonino)
- plus fréquents dans certaines régions
  - pourtour méditerranéen (40-50% des souches circulantes)
  - Asie du Sud Est
- Le virus mutant possède un codon stop dans la région pré C
  - incapable de coder pour la production de l'Ag HBe
  - mais capable de se répliquer (HBV DNA +)
- Le plus souvent, il existe une infection par le type sauvage et le mutant. Au cours de l'évolution de la maladie, le mutant peut devenir prédominant



# Mutants "s" et détection

## Dépistage d'un donneur Ag HBs+ (Prism) non confirmé par le test Ortho

|                   |                      |
|-------------------|----------------------|
| Anti HBc          | <b>Positif</b>       |
| IgM anti HBc      | <b>Négatif</b>       |
| Ag HBe            | <b>Négatif</b>       |
| Anti HBe          | <b>Positif</b>       |
| Anti HBs          | <b>Négatif</b>       |
| HBV-DNA (Monitor) | <b>4.120 cop./mL</b> |

| Tests                  | Result (S/CO) |
|------------------------|---------------|
| Prism HBs Ag           | 440.52        |
| Ortho HBsAg System 3   | 0.345         |
| AxSYM HBsAg V2         | 402.99        |
| Ortho Vitros ECi HBsAg | non-reactive  |
| Murex HBsAg V3         | 50.69         |

Séquence : s T143L

Levicnik-Stezinar et al., *Clin. Lab.* 50:49-51, 2004.

## Mutations multiples chez un patient agammaglobulinémique

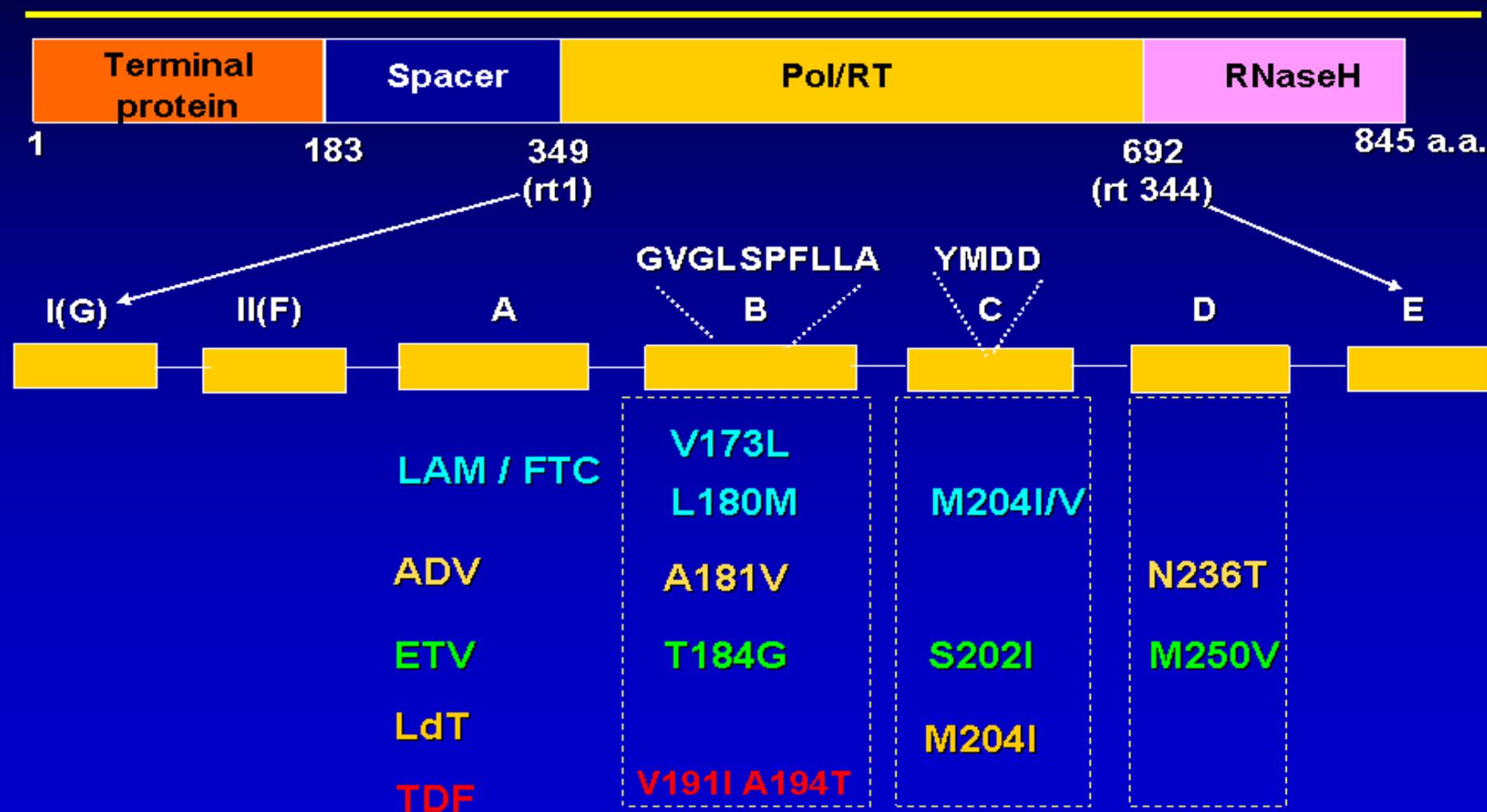
Ag HBs négatif (Axsym et Murex), présence d'anti-HBs

Séquence : s

M125T  
Y134H  
C139Y  
D144G  
G145R

Alexopoulo et al., *JCM* 42:2861-2865, 2004.

# Mutations associées avec une résistance aux antiviraux



1 Allen MJ, et al. *Hepatology* 1998; 27:1670-1677  
 2 Gilead data on file

3 Qi X, et al. *J Hepatol* 2004, 40 (suppl 1): 20-21  
 4 Tenney et al. *AAC*. 2004;48:3498-507  
 5 Lai CL, et al. *Hepatology* 2003; 38: 262A  
 6 Soriano V et al, *AASLD* 2004

# Un mot sur l'hépatite DELTA

- Virus à ARN défectif:

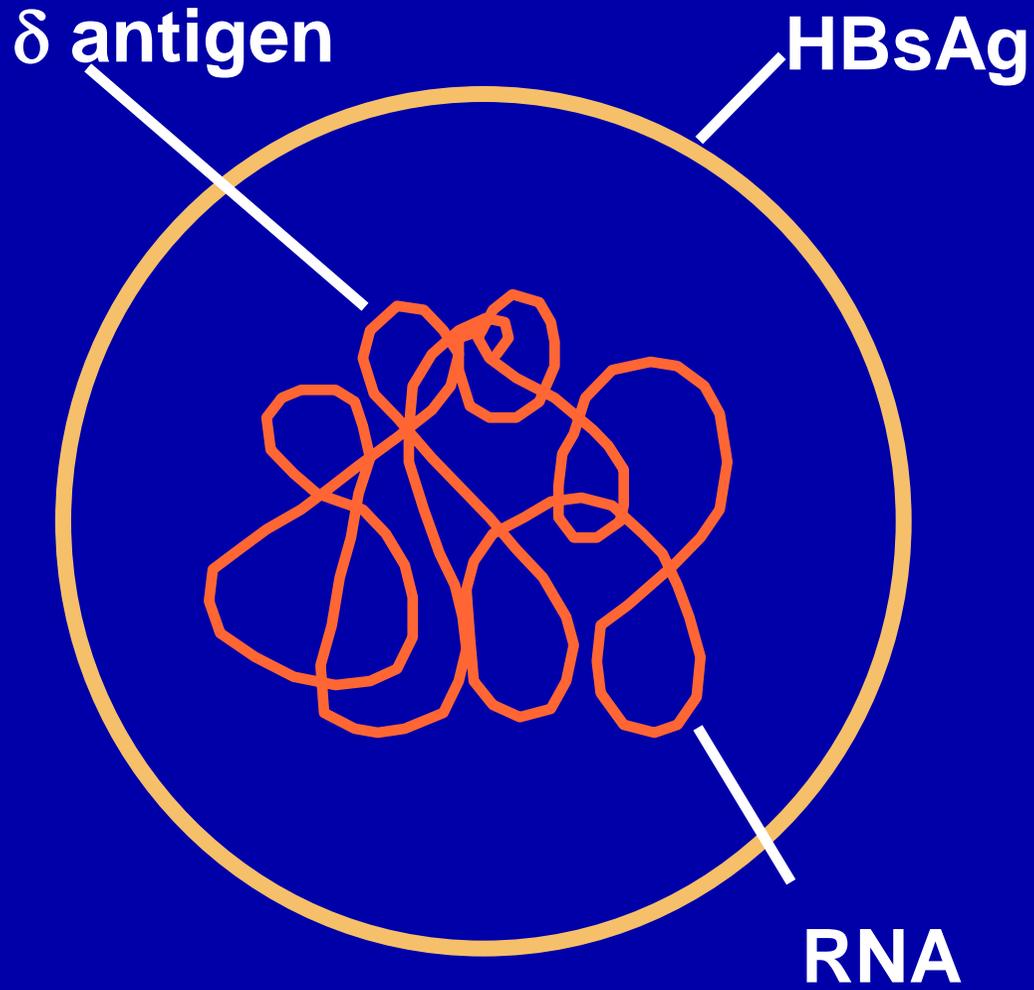
- Virus enveloppé sans gène d'enveloppe
- Utilise l'AgHBs

→ Uniquement en surinfection de l'hépatite B

→ Facteur de gravité

→ Hépatite fulminante "épidémique" chez les toxicomanes

# Hepatitis D (Delta) Virus



# Définition et structure du virus D

Virus de l'hépatite delta ou D (VHD):

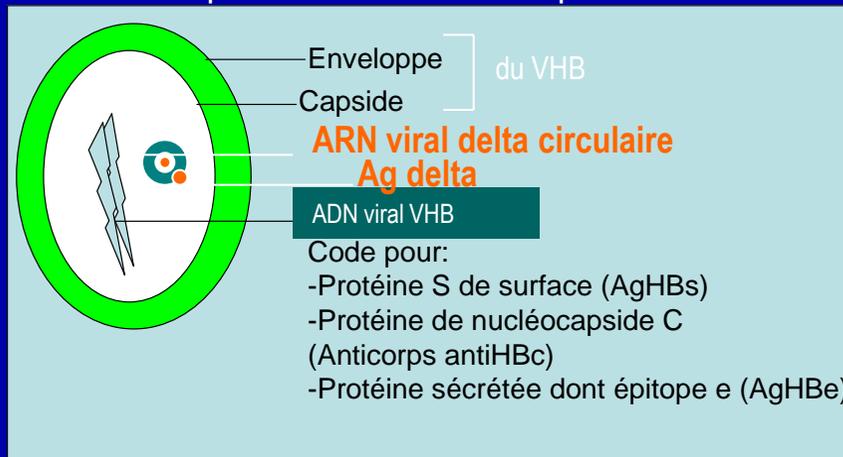
**Virus à ARN de petite taille.**

**Virus défectif: dépendant du VHB.**

**3 génotypes: I, II et III**

**Sous-types A et B.**

Représentation schématique du VHB et du VHD:



Le VHD est **auxiliaire** du VHB

Pol S. P. Traitements des hépatites virales delta. *Gastroenterol Clin Biol.* 2005, 29 : 384-387.

Shukla N.B. Poles M.A. Hepatitis B virus infection : coinfection with hepatitis C virus, hepatitis D virus and human immunodeficiency virus. *Clin in Liver Dis.* 2004; 8, 445-460.

# Conclusion I

- **Meilleure compréhension et identification des mécanismes d'activation virale est nécessaire pour développer de nouveaux traitements:**
  - Nouvelles cibles thérapeutiques?
    - Molécules capables d'interférer avec un mécanisme crucial de réplication virale?
  - Futur vaccin anti-VHD pour les porteurs chroniques du VHB?
    - 300 millions de porteurs chroniques HBs dans le monde ...

# Conclusion II

## Principaux problèmes clés non résolus:

- Amélioration de la sensibilité des méthodes de détection de l'Ag de surface (AgHBs) et de la reconnaissance des mutants du gène S.
- Epidémiologie de la variabilité génétique du VHB et prévalence des mutants du gène S dans le monde.
- Impact des mutants du gène S sur l'efficacité de la vaccination.
- Signification clinique et standardisation des marqueurs de l'infection chronique: quantification de l'Ag HBs, Ag HBe et anticorps IgM anti-HBc.
- Standardisation des méthodes moléculaires pour quantifier l'ADN et signification clinique des bas niveaux d'ADN viral circulant.
- Apport des méthodes moléculaires ultra-sensibles d'amplification dans le dépistage virale des dons de sang et intérêt des anticorps anti-Hbc.

Weber B. *Recent developments in the diagnosis and monitoring of HBV infection and role of the genetic variability of the S gene.* Expert Rev Mol Diagn. 2005; 5, 1:75-91.