

HEPATITE B

DEFINITION

Le VHB (virus de l'hépatite B), agent étiologique de l'hépatite B chez l'homme, est un virus à ADN appartenant à la famille des *hepadnaviridae* (hepatotropic **DNA** Viruses) à laquelle sont également rattachés le WHV (*Woodchuck hepatitis B virus*) responsable d'hépatite chez la marmotte américaine et le DHBV (*Duck hepatitis virus*) retrouvé chez le canard. Cette famille regroupe des virus caractérisés par un tropisme électif pour les hépatocytes. Le VHB est un petit virus enveloppé, dont le génome est fortement compacté et organisé sous la forme d'un ADN viral partiellement bicaténaire et circulaire.

Neuf sous-types du VHB ont été identifiés, reflet de l'hétérogénéité de l'Ag HBs. Une fois connue la séquence nucléotidique du VHB, une relation a été établie entre sous-types et génotypes (groupés de A à G). La caractérisation de ces génotypes a un intérêt épidémiologique et pronostique.

Synonymes : Famille : *Hepadnaviridae* ; Genre : *Orthohepadnavirus* ; *Hepatitis B virus* (HBV) ; Virus de l'hépatite B (VHB).

BIOPATHOLOGIE

■ EPIDEMIOLOGIE

L'infection par le VHB est strictement limitée à l'homme et peut être transmise par voie sexuelle, parentérale et périnatale. Cependant les données épidémiologiques révèlent que, pour un tiers des sujets infectés par le VHB, aucune histoire d'exposition à des facteurs de risque n'est identifiée. L'infection est endémique et mondiale (près de 400 millions de personnes sont porteuses du VHB), avec une prévalence et un mode de transmission qui varie selon les zones géographiques. En zone de faible endémie (Amérique du nord, Australie et Europe de l'Ouest), la transmission est essentiellement parentérale et sexuelle. Dans les zones de forte endémie (Afrique, Asie du Sud-Est, Chine, Japon), la transmission mère-enfant est prédominante. Si la vaccination contre l'hépatite B constitue un moyen de prévention efficace, l'infection par le virus de l'hépatite B représente toujours un problème de santé publique majeur. Selon les données de l'OMS, la prévalence de l'hépatite chronique B au niveau mondial est d'environ 5 %. En France, on compte environ 300 000 personnes atteintes, soit 0,5 % de la population. Les enquêtes épidémiologiques révèlent qu'à la suite d'une hépatite B aiguë, un sujet immunocompétent sur quinze développera une infection chronique. Cette évolution vers la chronicité est quasi constante lors

d'une infection survenant pendant la période périnatale (observable en zone de forte endémie) ainsi que chez les sujets immunodéprimés. La gravité de l'hépatite chronique est liée à son évolution lente et silencieuse pouvant conduire à l'installation d'une cirrhose et d'un carcinome hépatocellulaire. Cette évolution vers une maladie hépatique sévère peut être inhibée ou retardée par une thérapie anti-virale.

■ CLINIQUE

■ **Hépatite B aiguë** : Après une période d'incubation souvent silencieuse, en moyenne de 10 semaines, la forme aiguë, se caractérise par une phase ictérique avec un bilan hépatique perturbé. Chez 80 % des sujets adultes, l'hépatite aiguë reste asymptomatique et n'est pas diagnostiquée. Dans moins de 1 % des cas, on observe une hépatite fulminante, généralement d'évolution mortelle. Les lésions hépatiques au cours d'une infection par le VHB sont principalement la conséquence d'une reconnaissance par le système immunitaire de l'hôte des antigènes viraux exprimés à la surface des hépatocytes. C'est l'évolution des marqueurs directs de l'infection (ADN viral, antigène HBs, antigène HBe) et des marqueurs indirects liés à la réponse immunitaire (anticorps anti-HBc (IgM et IgG), anticorps anti-HBe et anticorps anti-HBs) qui permet de poser le diagnostic et le pronostic d'une évolution favorable (fig. 1). Cependant, à la suite d'une infection aiguë par le VHB, environ 5 % à 10 % des sujets sont incapables de développer une réponse immunitaire leur permettant d'éliminer le virus et ces sujets demeurent porteurs chroniques du VHB.

■ **Hépatite B chronique** : Dans un premier temps s'installe une **phase d'immunotolérance** (2 à 5 semaines voire plusieurs années lors d'une infection périnatale) avec une réplication virale intense sans lésion hépatique (charge virale élevée et transaminases normales ou subnormales). Puis le sujet développe une réponse immunologique (**phase immuno-active**) qui conduit à une lyse des hépatocytes (transaminases élevées). L'antigène HBe est détectable (en cas d'infection par un virus « sauvage ») ainsi que l'ADN viral. Cette période peut durer plusieurs années. Au cours du temps, on observe une diminution progressive du niveau de la réplication virale avec une disparition de l'Ag HBe associée à l'apparition des anticorps anti-HBe. Cette séroconversion dans le système HBe peut sélectionner des mutants d'échappements appelés « mutants préC » (voir paragraphe « mutants VHB »). Suit la phase **non répllicative** dénommée « post-séroconversion HBe », les transaminases sont alors normales et la réplication virale n'est détectable que par des méthodes moléculaires hautement sensibles (niveau de réplication < 10⁵ copies/mL ou 2.10⁴UI/ml).

Dans de très rares cas, l'installation d'une immunité vis-à-vis du VHB peut être observée. Elle est caractérisée par une disparition de l'antigène HBs et éventuellement, apparition des anticorps anti-HBs.

biomnis – biomnis

biomnis – biomnis

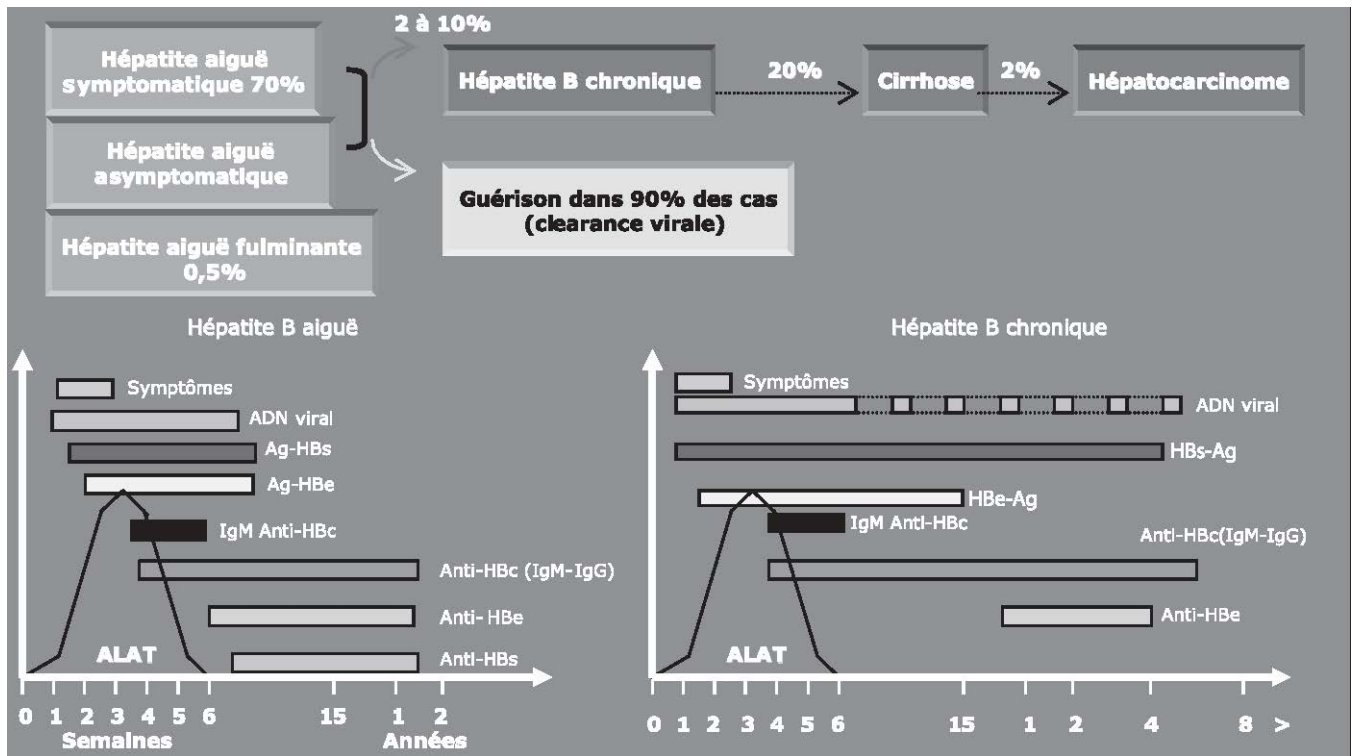


Figure 1 : Evolution sérologique et virologique de l'hépatite B.

INDICATIONS DE LA RECHERCHE SEROLOGIQUE ET/OU DE L'ADN VIRAL

- Diagnostic d'une hépatite B aiguë ou chronique.
- Diagnostic d'une hépatite B dans le cadre d'une transmission après accident d'exposition au sang (AES).
- Diagnostic d'une hépatite B dans le cadre d'une transmission mère-enfant.
- Suivi d'une hépatite B chronique.
- Suivi thérapeutique d'une hépatite B.

RECOMMANDATIONS PREANALYTIQUES

PRELEVEMENT - CONSERVATION, TRANSPORT

Se reporter au référentiel des examens de biologie médicale Biomnis en ligne pour les conditions de prélèvement et conservation-transport.

METHODES DE DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE

Le diagnostic biologique repose sur des tests permettant de mesurer l'activité de la maladie hépatique (ALAT et ASAT), sur la détection de marqueurs directs dans le sang (antigène HBs, antigène HBe, ADN viral), voire sur coupe histologique du foie (antigène HBc) ou de marqueurs indirects (anticorps anti-HBc de type IgM et IgG), anticorps anti-HBe et anticorps anti-HBs) de l'infection.

MARQUEURS DISPONIBLES

Ag HBs

Longtemps appelé « *Antigène Australia* », l'Ag HBs est le marqueur sérologique essentiel à tout diagnostic d'infection par le VHB, sa détection attestant d'une infection en cours par le VHB. Les tests actuellement commercialisés utilisent des anticorps monoclonaux reconnaissant l'épitope « a » du gène S, commun à la totalité des souches de VHB. L'Ag HBs apparaît précocement au cours d'une infection par le VHB. Il est décelable deux à quatre semaines avant la phase d'état de la maladie, deux semaines environ avant l'apparition des anticorps anti-HBc IgM et reste détectable en moyenne quatre à six semaines. La disparition de l'Ag HBs signe l'évolution favorable de l'infection. Le plus souvent cette disparition ne se concrétise qu'après la normalisation des signes cliniques et le retour à la normale de l'activité sérique de l'ALAT. A l'inverse, la persistance de l'Ag HBs (plus de 6 mois) définit l'évolution chronique de l'infection.

La détection des **antigènes pré-S1 ou pré-S2** est possible. La non-détection de l'antigène pré-S1 est prédictive d'un arrêt de la multiplication virale. Cette détection est du domaine de la recherche.

Anticorps anti-HBs

La présence d'anticorps anti-HBs signe :

- l'arrêt de répllication virale, soit la guérison ou plutôt la « résolution » de l'infection, 2 semaines à 4 mois après la disparition de l'Ag HBs
- ou bien une protection post-vaccinale (seul marqueur

VHB présent dans ce cas).

Toutes les techniques d'immunodosage sont actuellement quantitatives et le seuil protecteur est fixé à 10 UI/L (seuil OMS). En résumé, la recherche des Ac anti-HBs n'est indiquée que pour contrôler une immunisation vaccinale ou préciser le statut sérologique d'un sujet Ag HBs négatif/Ac anti-HBc totaux positifs.

■ Ag HBc

L'Ag HBc ne peut être recherché par immunohistochimie que sur une biopsie hépatique. Il n'est pas recherché en pratique courante. En phase de réplication virale intense, il est détectable au niveau du noyau des hépatocytes (contrairement à l'Ag HBs qui est lui, en position cytoplasmique), mais ne l'est plus à la phase post-séroconversion HBe (phase « non réplivative »).

■ Anticorps anti-HBc totaux et anti-HBc IgM

Les IgM anti-HBc sont des anticorps d'apparition très précoce (environ 2 semaines après l'Ag HBs). Ils persistent à titre élevé pendant toute la phase aiguë puis se négativent ; leur détectabilité peut durer plusieurs mois (jusqu'à 6 mois environ), elles sont donc souvent encore présentes alors que l'Ag HBs a disparu, dans le cas de l'hépatite résolutive. Lors de la découverte fortuite d'un Ag HBs, la recherche des IgM permet de distinguer une infection ancienne d'une infection aiguë ; toutefois, la sensibilité importante des réactifs permet aussi de les redétecter en cas de réactivation du VHB.

On ne recherche pas les IgG anti-HBc à proprement parler, mais les anticorps totaux, IgG + IgM. Les anticorps anti-HBc totaux apparaissent donc très rapidement après le contact viral, sont non protecteurs et persistent de très nombreuses années après guérison, voire « à vie » quand l'infection a été prolongée ou a entraîné une infection symptomatique, ce qui en fait un excellent marqueur épidémiologique du contact avec le VHB.

■ Ag HBe

L'Ag HBe peut être utilisé comme marqueur de réplication du VHB. Cependant il n'est pas directement associé au virion ; il ne constitue qu'un marqueur indirect de réplication dont la détection est corrélée à 80 % avec la détection de l'ADN du VHB. Dans le cas du mutant préC actuellement très répandu (30 à 80 % des souches selon la zone géographique), l'Ag HBe est négatif, avec des charges virales supérieures à $10^4/10^5$ copies /mL (ou 2.10^3 à 2.10^4 UI/mL). Dans ce contexte, la recherche de l'Ag HBe prend toute sa valeur : l'absence d'Ag HBe alors que l'ADN du VHB est présent permet de suspecter (sans l'affirmer) une infection par un mutant pré-C (ce type de profil sérologique n'étant pas totalement corrélé à une infection par un mutant pré-C).

■ Anticorps anti-HBe

L'apparition de l'anti-HBe survient normalement 6 à 8 semaines après l'apparition de l'Ag HBs dans le cas d'une hépatite aiguë résolutive et marque la fin de la réplication active du virus : il s'agit du premier verrou

immunologique de réplication virale et il pronostique donc une évolution favorable. *A contrario*, son absence à 3 mois avec persistance de l'Ag HBe fait craindre une évolution chronique qui sera confirmée au 6e mois.

La recherche des Ac anti-HBe permet d'observer la séroconversion anti-HBe (confirmant la disparition de l'Ag HBe), l'un des objectifs du traitement antiviral.

■ ADN du VHB

La quantité d'Ag HBs sérique ne préjugant pas de la proportion de virions complets par rapport aux particules défectives d'enveloppe et l'Ag HBe n'étant qu'un marqueur par défaut, la recherche de l'ADN du VHB est le meilleur marqueur de présence des virions. Les méthodes de quantification de l'ADN du VHB utilisent principalement aujourd'hui la PCR en temps réel dont le seuil de sensibilité est de 10 à 20 UI/ml (1 UI \approx 5 copies standard OMS : *WHO International Standard for HBV DNA*).

■ SEROLOGIE LORS D'UNE INFECTION AIGUË (Fig.2)

L'infection aiguë correspond à une phase de réplication virale active. L'Ag HBs est le premier marqueur de la réplication virale retrouvé dans le sérum. La synthèse est maximale au moment de la phase aiguë de l'hépatite (élévation franche des transaminases). L'Ag HBe, étroitement associé à la nucléocapside virale, est présent au moment de la pleine réplication virale, quand l'Ag HBs est à un taux élevé. Les Ac anti-HBc - de type IgM - sont présents dès l'apparition des signes cliniques.

■ Convalescence et résolution de l'infection

Habituellement, l'évolution des marqueurs est la suivante :

- à la phase de convalescence précoce, l'antigénémie HBs diminue puis disparaît et on assiste à la séroconversion HBe/anti-HBe, conséquence de l'arrêt de la réplication virale ;

- après un délai plus ou moins long, les Ac anti-HBs apparaissent. Il ne subsiste plus chez le sujet guéri que des Ac anti-HBs, des Ac anti-HBc (de type IgG) et des Ac anti-HBe dont les taux vont décroître au fil des années.

■ Évolution vers la chronicité

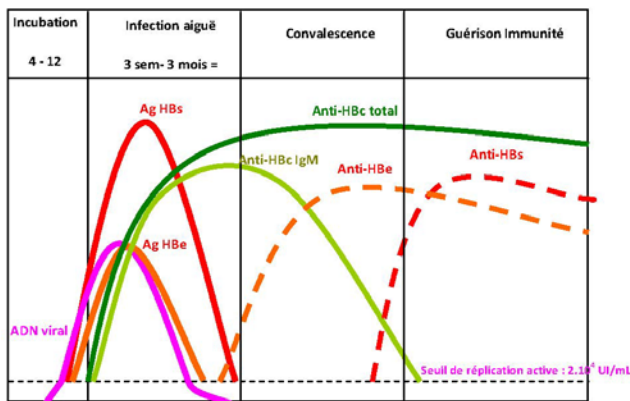
Le passage à la chronicité est variable selon le degré d'immunocompétence, de 5 à 10 % chez l'adulte à la presque totalité des enfants infectés par leur mère au moment de la naissance. Cette évolution suit la phase aiguë qui peut passer totalement inaperçue. Le potentiel évolutif est apprécié sur :

- la persistance de l'Ag HBs au-delà de 6 mois;

- l'absence de séroconversion HBe/anti-HBe dans les 6 à 8 semaines qui suivent la phase aiguë (phase aiguë prolongée) ; la persistance de l'Ag HBe indique qu'il n'y a pas eu élimination des virions infectieux par le système immunitaire. Le sujet reste hautement infectant.

-

Figure n°2 : cinétique des marqueurs de l'hépatite B : cas de l'hépatite aiguë résolutive



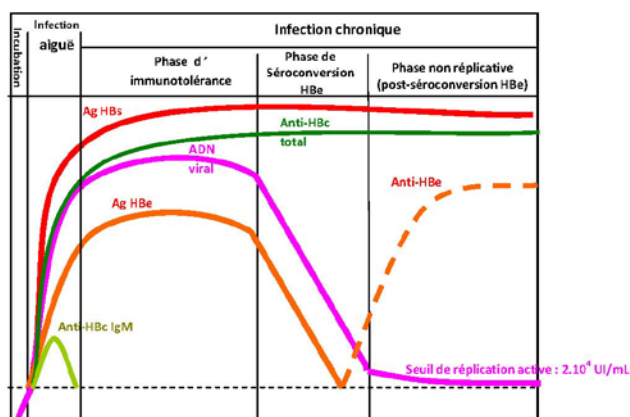
SEROLOGIE LORS D'UNE INFECTION AIGUË (Fig.3)

Par la sérologie classique, les marqueurs indirects de la répllication virale (Ag HBe) et la réponse immunitaire du sujet (anti-HBe) permettent de définir deux stades de l'infection correspondant respectivement, soit à une répllication du génome viral, soit à une intégration de celui-ci dans le génome de l'hôte, ce dernier correspondant à un degré moindre d'infectiosité.

La séroconversion HBe, dans l'histoire naturelle de l'infection chronique par le VHB, est un phénomène spontané et constant. Elle est souvent précédée d'une exacerbation de la maladie hépatique pouvant d'ailleurs poser des problèmes diagnostiques si les marqueurs du VHB ne sont pas connus antérieurement. Cette réduction de la répllication virale avec le temps a pour corollaire une diminution de la prévalence de l'Ag HBe avec l'âge.

Cet état « post-séroconversion HBe » n'est pas définitif ; il existe des possibilités de réactivation(s) spontanée(s) avec réapparition de l'Ag HBe, généralement dans l'année de la disparition de l'Ag HBe (15 % des hépatites chroniques à ce stade sont concernées par une séroréversion HBe dans leur évolution).

Figure n°3 : cinétique des marqueurs de l'hépatite B : cas du passage à la chronicité ; les 2 phases de l'infection chronique



SITUATIONS SÉROLOGIQUES PARTICULIÈRES

■ **La présence isolée d'anti-HBc totaux** (absence d'Ag HBs et d'anti-HBs) peut correspondre :

- à la phase de convalescence d'une hépatite aiguë, phase dite de « fenêtre sérologique » entre la disparition de l'Ag HBs et l'apparition de l'anti-HBs qui, du fait de la formation de complexes avec l'antigène au début de sa production, est détecté plus tardivement. Dans ce cas, l'anticorps anti-HBe est présent et les IgM anti-HBc sont encore détectables,
- à une infection ancienne guérie dont l'anti-HBs s'est négativé (chez les personnes âgées ou immunodéprimées),
- à un faux positif : dans les zones de faible positivité, certaines techniques souffrent d'un manque de spécificité; il est recommandé dans cette situation de contrôler ce paramètre avec un réactif différent,
- plus rarement, à une hépatite B « occulte »: défaut de production quantitatif de l'Ag HBs alors que sa séquence nucléotidique est normale (ADN viral faible dans le sang et le foie),
- beaucoup plus rarement encore, à un mutant d'Ag HBs non détecté par le test de dépistage d'Ag HBs.

■ **La positivité isolée de l'IgM anti-HBc** (sans Ag HBs, ni anti-HBs), peut correspondre :

- à une fausse positivité (l'anti-HBc total pouvant lui-même être faussement positif),
- à une co-infection par le virus de l'hépatite Delta : dans 10 % des cas peut se produire une extinction de l'Ag HBs.

■ **La présence simultanément d'Ag HBs et d'Ac anti-HBs** peut correspondre :

- à une fausse positivité en Ag HBs (à confirmer par le test de neutralisation) ; dans ce cas l'Ac anti-HBc est négatif,
- à une hépatite B chronique (dans ce cas le titre d'Ac anti-HBs est < 100 UI/L la plupart du temps),
- à une hépatite aiguë, notamment s'il s'agit d'une hépatite fulminante.

■ **La présence isolée d'Ag HBe (sans Ag HBs)** peut correspondre :

- à une fausse positivité en Ag HBe : dans ce cas, l'Ac anti-HBc est négatif,
- à la présence plus rarement d'un mutant d'Ag HBs, non détecté par le test de dépistage : dans ce cas l'Ac anti-HBc est positif.

UTILISATION DES TESTS DE QUANTIFICATION DANS LE DIAGNOSTIC ET LE SUIVI DES PATIENTS

■ **Hépatite aiguë récente**

L'ADN du VHB est détectable avant la phase de cytolysse et l'apparition de l'antigène HBs. Cependant, la détection et/ou la quantification de l'ADN viral du VHB n'a aucun intérêt dans les formes aiguës récentes. Le diagnostic est posé par la présence de l'antigène HBs et la quantification de l'IgM anti-HBc.

■ Hépatite chronique

Elle est définie par la détection de l'Ag HBs sur deux prélèvements à 6 mois d'intervalle et l'absence d'IgM anti-HBc. La détermination de la virémie est alors un élément capital afin d'évaluer le niveau de réplication et le risque d'évolution, de décider du traitement, de mesurer la réponse thérapeutique ou encore de permettre la détection précoce d'une résistance aux antiviraux).

■ Hépatite chronique « phase d'immunotolérance »

Lors de cette phase de tolérance immunitaire, la réplication virale est intense puisque l'on retrouve des virémies supérieures à 2.10^8 UI/mL. Ceci souligne l'extrême contagiosité du sérum des patients lors de la phase de réplication active du VHB, qu'il s'agisse d'une infection aiguë ou chronique. Pendant cette première phase qui peut durer de 1 à 15 ans, l'activité des aminotransférases est peu perturbée.

■ Hépatite chronique « phase immuno-active »

Le développement d'une réponse immunitaire conduit à une clairance virale caractérisée par une diminution de la virémie. La réaction immunitaire vis-à-vis des hépatocytes infectés conduit à l'augmentation de l'activité des aminotransférases (ALAT, ASAT) et au développement de lésions inflammatoires intra-hépatiques.

■ Hépatite chronique « phase non ou peu répliquative ou portage inactif du virus »

On considère qu'un sujet est porteur d'une hépatite chronique dite peu répliquative si la virémie mesurée est inférieure à $2 \cdot 10^4$ UI/ml (ou 10^5 copies/mL). Chez ces sujets, l'antigène HBe n'est plus détecté et on observe l'apparition d'anticorps anti-HBe (séroconversion «e»). La maladie hépatique est peu évolutive, ne nécessitant pas de traitement, et l'activité des aminotransférases se normalise.

Au niveau hépatique, on observe :

- soit une intégration du génome viral du VHB au sein du génome des hépatocytes, responsable de l'hépatocarcinogénèse,
- soit le maintien de manière épisomique du génome viral sous la forme d'ADN circulaire super-enroulé (ADNccc) à l'origine du processus de réactivation virale.

■ Hépatite chronique et réactivation virale

Au cours de l'hépatite B chronique, l'ADNccc (circulaire covalent clos) du VHB n'est pas éliminé ; les anticorps anti-HBc persistent toute la vie. Il existe des réservoirs secondaires du virus (hépatocytes, lymphocytes, ...). De fait, les réactivations virales sont possibles, chez les porteurs chroniques au stade peu répliquatif et chez des patients ayant eu une infection résolue : L'AgHBe peut réapparaître chez des sujets qui étaient AgHBe négatifs (séroréversion HBe) et l'AgHBs chez des patients anti-HBs positifs (séroréversion HBs). La réplication virale

redémarre avec élévation des ALAT, et les IgM anti Hbc se positivent à nouveau. Les réactivations virales sont spontanées ou plus souvent iatrogènes, survenant après traitement cytotoxique ou immunosuppresseur (corticoïdes, rituximab, infliximab...). La réactivation du VHB est définie par l'augmentation de la charge virale VHB d'au moins 1 log par rapport à son nadir (niveau basal) ou une élévation importante ($> 2.10^5$ UI/ml), après avoir éliminé une infection systémique récurrente et une infection par les virus des hépatites A, C, D ou E. Désormais, tout patient à risque de réactivation, c'est-à-dire ayant des antécédents d'infection par le VHB et devant recevoir un traitement immunosuppresseur ou cytotoxique, doit être pris en charge préventivement. Les molécules actuellement utilisées en prophylaxie sont le ténofovir ou l'entécavir.

■ GÉNOTYPAGE DU VHB

La variabilité des souches circulantes de VHB correspond à une variabilité dans les épitopes de l'antigène de surface (AgHBs). La reconnaissance par des immunosérums de différents déterminants antigéniques portés par l'antigène HBs a conduit à subdiviser les souches de VHB en différents sérotypes. Un épitope majeur dénommé «a» est partagé par tous les types alors que les déterminants d/y et w/r sont exclusifs l'un de l'autre et spécifiques de sous-types (sous-types adw, adr, ayw, ayr).

Un dernier niveau de variabilité existe pour le déterminant w (w1, w2, w3 et w4). Cette variabilité antigénique est liée à une variabilité du génome viral. L'analyse des séquences nucléotidiques des différentes souches a permis d'identifier 7 génotypes (AG) : ces génotypes correspondent à une divergence entre les séquences nucléotidiques supérieure ou égale à 8 %. Une relation a pu être établie entre sous-types et génotypes (tableau 1). 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.

Génotypes	A	B	C	D	E	F	G
Sérotypes associés	adw2 (ayw1)	adw2 ayw1	adr adrq- ayr	ayw2 ayw3	ayw4 (adw2)	adw4q-	adw2

Tableau 1 : Classification des génotypes du VHB et sérotypes associés.

Différentes méthodes sont utilisées pour caractériser les génotypes du VHB. Ces méthodes sont toutes basées sur l'amplification par PCR de séquences situées dans les régions pré-S et S. Les produits d'amplification obtenus sont analysés, soit par traitement à l'aide d'endonucléases de restriction (méthode de **PCR-RFLP** pour *PCR-Restriction fragment length polymorphism*), soit par séquençage direct puis comparaison par alignement de la séquence obtenue à des séquences de référence, soit par hybridation inverse des produits amplifiés à des sondes oligonucléotidiques spécifiques des principaux types (méthode LiPA ou *Line Probe*

Assay) fixées sur une bandelette de nitrocellulose. La caractérisation du génotype présente un intérêt épidémiologique (ex : association plus fréquente des mutants préC aux génotypes non A du bassin méditerranéen, en particulier au génotype D). En France, les génotypes A et D (sous-types adw2 et ayw2) sont les plus fréquents.

La détermination du génotype a aussi un intérêt pronostique : la maladie est plus sévère en Asie avec le génotype C par rapport au génotype B. La réponse à l'interféron alpha est meilleure avec les génotypes A (en Europe) par rapport aux génotypes D (Europe, Amérique). Elle est aussi meilleure avec les génotypes B (Asie) par rapport aux génotypes C (Asie).

■ CARACTÉRISATION DES MUTANTS DU VHB

Si l'existence de différents génotypes circulants représente un premier niveau de variabilité, un second niveau de variabilité est représenté par l'apparition de virus mutants. La réplication de l'ADN viral du VHB, en comportant une étape de transcription inverse, explique l'apparition de mutations fréquentes au cours de sa phase de réplication. Certaines mutations sont liées à la capacité d'échapper aux mécanismes de surveillance immunologique de l'hôte (mutants d'évasion ou *escape mutants*). D'autres mutations sont associées au développement d'une forme plus sévère de la maladie (mutations au niveau de la région pré-core, de la région promotrice et de la capsid), à la résistance aux antiviraux (mutations de l'ADN polymérase) ou à la cancérogénèse hépatocellulaire (mutants X).

■ Mutants S

Les mutants S sont caractérisés par l'apparition de mutations ponctuelles ou d'insertions de séquences d'acide nucléique au sein de la région codant l'antigène HBs. La réponse immunologique *in fine* étant dirigée contre des épitopes portés par l'antigène HBs, l'apparition de mutations dans la région S permet aux mutants d'échapper à la surveillance du système immunitaire. Cependant, les mutants S sont rares et observés plus particulièrement dans les régions asiatiques. L'apparition des mutants S est provoquée par les traitements préventifs contre le VHB, lors des campagnes de vaccination ou lors du traitement préventif par sérothérapie chez les greffés du foie ou chez les femmes enceintes porteuses du virus (sérothérapie: immunothérapie passive par Ig spécifiques anti-HBs). Parfois, ces mutants peuvent apparaître chez un sujet porteur chronique du virus. Les mutations situées dans la région S donnent lieu à des résultats faussement négatifs à certains tests de dépistage de l'AgHBs, ce qui représente un risque pour le patient non dépisté et pour la sécurité du système de transfusion sanguine. Les sujets porteurs de tels mutants sont révélés par la détection de l'anticorps anti-HBc, l'antigène HBe et la recherche de l'ADN viral. Cependant, la confirmation est apportée par séquençage direct de la région S et comparaison par alignement à des séquences de référence.

■ Mutants pré-C ou variants AgHBe (-)

Les mutants pré-C correspondent à l'existence de mutations, délétions ou insertions nucléotidiques situées dans la région pré-C, responsables d'une diminution ou d'un arrêt de la synthèse de l'Ag HBe, et d'une persistance de la réplication virale malgré la présence d'anti-HBe chez les malades. La mutation 1896G > A (substitution d'une guanine par une adénine en position 1 896 de la région pré-C) est la plus fréquente. Cette mutation est responsable de l'apparition prématurée d'un codon stop (codon TAG), qui conduit à un arrêt de la synthèse de l'Ag HBe. Les hépatites B dues au mutant pré-C sont aujourd'hui largement répandues dans les populations du pourtour du bassin méditerranéen, en Afrique, et en Asie et en Europe (en France, on estime que plus de 50 % des sujets infectés par le VHB sont porteurs d'un mutant pré-C). Les malades porteurs de mutants pré-C sont caractérisés par une antigénémie négative pour l'Ag HBe. La réplication virale est fluctuante et de faible intensité (10^3 à 10^6 copies/ml ou bien 2.10^2 à 2.10^5 UI/mL) ainsi que l'activité des aminotransférases. Parmi les autres mutations décrites dans la région pré-C responsables d'une diminution de synthèse de l'antigène HBe, on peut citer les mutations 1762A > T et 1764G > A. Cette forme d'hépatite est d'évolution plus sévère et est plus difficile à traiter que celle à virus sauvage.

■ Mutants de l'ADN polymérase

Des mutations dans la région codant l'ADN-polymérase (mutations situées dans le domaine catalytique de l'enzyme), apparaissent environ après 6 mois sous traitement prolongé par des analogues nucléotidiques. Dans le cas du traitement par la lamivudine, deux mutations, Met552Ile ou Met552Val, affectent le motif conservé Tyr-Met-Asp-Asp (YMDD) qui fait partie du site actif (domaine C) de l'ADN polymérase. Le famciclovir, un autre analogue nucléotidique, peut induire des mutations à l'intérieur du domaine B de l'ADN polymérase (mutations Val521Leu et Leu528Met). En réduisant l'affinité des analogues nucléotidiques pour l'ADN polymérase virale (ADNP), ces mutations laissent craindre la possibilité d'un échappement au traitement. La réplication virale augmente, mais elle n'atteint pas les niveaux documentés avant le début du traitement. Parce que la réplication du virus mutant est compromise dans la région vitale de l'activité ADNP, le virus sauvage réapparaît à la fin de la pharmacothérapie. L'échappement est caractérisé par une élévation de l'activité sérique des transaminases associée à une réapparition de l'ADN, voire de l'Ag HBe.

La caractérisation des mutants pré-C et de la région codant l'ADN-polymérase (résistance aux antiviraux) fait appel à des techniques moléculaires basées sur l'amplification par PCR de séquences cibles situées dans les régions C ou P. Les produits d'amplification obtenus sont analysés par séquençage, ou par hybridation inverse des produits de PCR à des sondes

oligonucléotidiques spécifiques des principaux types (LiPA ou *Line Probe Assay*) fixées sur une bandelette de nitrocellulose.

En résumé : principaux tableaux clinicobiologiques

Hépatite B " résolue " Antécédent d'hépatite aiguë ou chronique AgHBs négatif Présence Ac anti HBe et anti-HBs ≥ 10 UI/l ADN VHB indétectable Transaminases normales	Portage inactif (stade post-séroconversion HBe) AgHBs (+) depuis plus de 6 mois AgHBe (-) et Ac anti-HBe + ADN VHB $< 2.10^{3/4}$ UI/ml Transaminases normales
Hépatite chronique B à virus sauvage (stade pré-séroconversion HBe) AgHBs (+) depuis plus de 6 mois AgHBe (+) et Ac anti-HBe (-) ADN VHB $> 2.10^5$ UI/ml Transaminases augmentées ou normales	Hépatite chronique B à mutant pré-core AgHBs (+) depuis plus de 6 mois AgHBe (-) et Ac anti-HBe (+/-) ADN VHB $\geq 2.10^{3/4}$ UI/ml Transaminases augmentées ou normales Anapath : fibrose \geq F2 PCR – séquençage pré-C : mutations spécifiques

mais l'indétectabilité de la charge virale, plus souvent avec les analogues (entécavir, ténofovir : 67 %, 74 %). Chez les patients Ag HBe négatif (charge virale souvent plus basse), les analogues sont généralement plus efficaces (indétectabilité de la charge virale obtenue dans 86 à 92 % des cas avec l'entécavir, la telbivudine ou le ténofovir). La négativation de l'Ag HBs à 1 an n'est obtenue que dans un petit nombre de cas (3 % avec l'IFN peg ou le ténofovir, 2 % avec l'entécavir, < 1 % avec les autres analogues).

Qui traiter ? Recommandations de l'EASL (2009)

Les patients ayant un ADN VHB > 2000 UI/ml et/ou des transaminases anormales et une fibrose hépatique (évaluée par ponction biopsie hépatique ou marqueurs sériques) \geq A2 F2. Les données cliniques doivent être prises en compte (âge, comorbidités, etc.). Cas particulier, les sujets ayant une cirrhose doivent être traités, même avec des transaminases normales.

En revanche, le traitement sera différé si l'hépatite chronique B est en phase d'immunotolérance (avec transaminases normales, même si la charge virale est élevée), et les cas avec ALAT < 2 fois la normale et fibrose/score Métavir $< A2$ F2. Ces patients seront étroitement surveillés.

LE TRAITEMENT

■ TRAITEMENT PRÉVENTIF : LA VACCINATION

La vaccination a été réintroduite dans le calendrier vaccinal français pour les nourrissons (3 injections à 2, 4 et 16 mois) et est obligatoire pour le personnel de santé pour lequel un taux supérieur à 100 UI/mL est recherché (personnels hospitaliers soignants, malades hémodialysés, personnels des centres de transfusion, techniciens de laboratoire), ainsi que les nouveau-nés de mère Ag HBs positives, et les populations se déplaçant dans des régions de fortes endémies.

■ TRAITEMENT CURATIF

■ **L'hépatite aiguë** : L'infection aiguë par le virus de l'hépatite B ne nécessite pas de traitement antiviral.

■ L'hépatite chronique :

Les traitements utilisés sont l'interféron alpha pegylé et les analogues nucléos(t)idiques : lamivudine, emtricitabine, adéfovir, entécavir, ténofovir, clevidine, telbivudine.

Les objectifs du traitement sont un ADN viral $< 10^5$ UI/ml, une amélioration clinique, biochimique, histologique, une séroconversion HBe chez les patients initialement Ag HBe + et une négativation de l'Ag HBs (avec éventuelle séroconversion en anti HBs).

Chez les patients Ag HBe positif (ayant le plus souvent une charge virale élevée), la séroconversion HBe est obtenue le plus souvent avec l'IFN pegylé (30 % des cas),

biomnis – biomnis

Les facteurs prédictifs du succès thérapeutique

Avant traitement, les facteurs prédictifs d'une réponse virologique (séroconversion HBe ou indétectabilité de l'ADN VHB) sont une charge virale < 7 log UI/ml, des ALAT $> 3N$ et un score Métavir $> A2$. Chez les patients traités par IFNpeg, d'autres marqueurs prédictifs du succès thérapeutique semblent prometteurs, mais sont encore en évaluation : la décroissance des taux d'Ag HBe et d'Ag HBs, ainsi qu'un génotype A ou B seraient des marqueurs d'évolution favorable.

Evaluation et suivi des traitements : définitions

Evaluation virologique par l'ADN VHB

- Réponse initiale : diminution de la charge virale (CV) > 1 log avant 3 mois.
- Réponse sous IFN : CV < 2000 UI/ml après 6 mois de traitement.
- Réponse sous analogues : CV < 12 UI/ml à 1 an.
- Absence de réponse primaire : diminution de la CV < 1 log avant 3 mois.
- Réponse virologique : charge virale indétectable à un an (< 10 UI/mL)
- Réponse partielle : diminution de la CV > 1 log, mais pas indétectable à 6 mois.
- Echec virologique : augmentation de la CV > 1 log par rapport au nadir, reproductible sur deux prélèvements successifs.

Evaluation et suivi biochimique et clinique

- Echec biochimique : augmentation des ALAT.
- Echec histologique : reprise de l'évolution de la fibrose.

Evaluation et suivi sérologique

- Chez les patients Ag HBe négatif : recherche d'une séroconversion HBs.
- Chez les patients Ag HBe positif : séroconversion HBe et HBs.
- Lors du traitement des enfants nés de mère positive pour l'Ag-HBs, le protocole de sérovaccination est le suivant : immunoglobulines antiHBs à 100 UI/l dans les 12 à 24 heures après la naissance et 1re injection de vaccin contre le VHB 2^e injection vaccinale à 1 mois de vie - 3^e injection vaccinale à 2 mois de vie - 4^e injection vaccinale à 3 mois de vie au cas où la mère est porteuse d'une maladie répliquative - 4^e ou 5^e injection à 12 mois.

POUR EN SAVOIR PLUS

- Denis F., Maniez M., Le virus de l'hépatite B, Cahier de Formation Bioforma, n° 21, 2001.
- Deny P., Hepadnaviridae, le virus de l'hépatite B et le virus satellite delta, Virologie Médicale, Mamette A., Presses Universitaires de Lyon, collection Azay, 2002, p 545-568.
- Gordien E., Quantification génomique : applications aux infections par le virus de l'hépatite B (HBV), RFL, 2003; 351: 38-40.
- http://www.aasld.org/eweb/docs/update_chronichep_B.pdf
- Ratzu V., Sayegh-Tainturier M.H., Nourani M., Poynard T., Mutants pré-C du VHB. Gastroenterol Clin Biol, 2002 ; 26 : 509-13.
- Zoulim F., Place des variants du virus de l'hépatite B dans le diagnostic et le contrôle de l'hépatite B, Médecine et Maladies infectieuses, mai 2003, vol.33, suppl. A, p46-51.
- Haute Autorité de Santé. 2011. Stratégies de dépistage biologique des hépatites virales B et C. http://www.has-sante.fr/portail/jcms/c_1050355/fr/strategies-de-depistage-biologique-des-hepatites-virales-b-et-c
- European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines: management of chronic hepatitis B. J Hepatol 2009;50 :227-242.
- Société française de microbiologie, *Virus de l'hépatite B*, In : REMIC : Société Française de Microbiologie Ed ;2015 :645-50.