



CENTRE HOSPITALIER UNIVERSITAIRE VAUDOIS  
Service d'immunologie et d'allergie

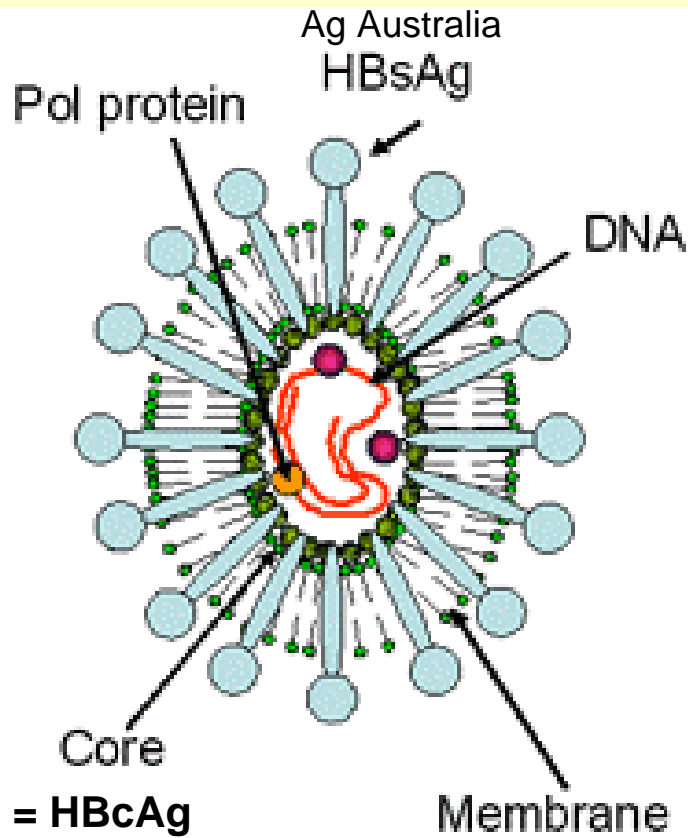
Séminaire de formation continue : **Auditoire Yersin – CHUV**

# HEPATITES

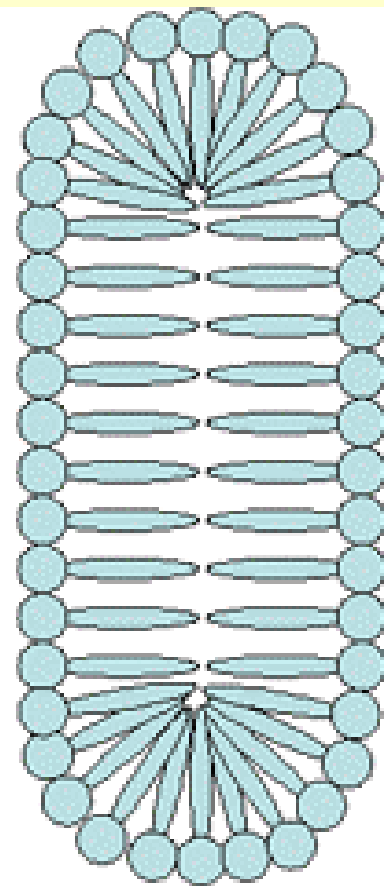
**Jeudi 7 Décembre 2006**

***Le laboratoire et le diagnostic de l'hépatite B :  
principes de base et nouveautés***

***Dr Ph. Bürgisser***

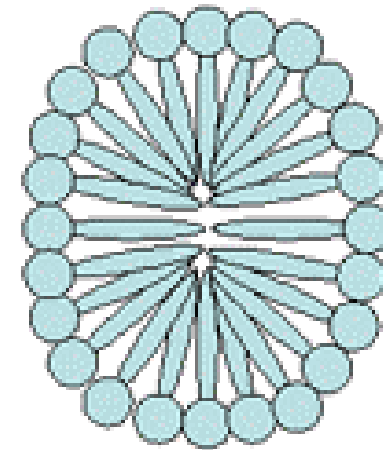


Virus  
Dane particle  
40nm  
diameter



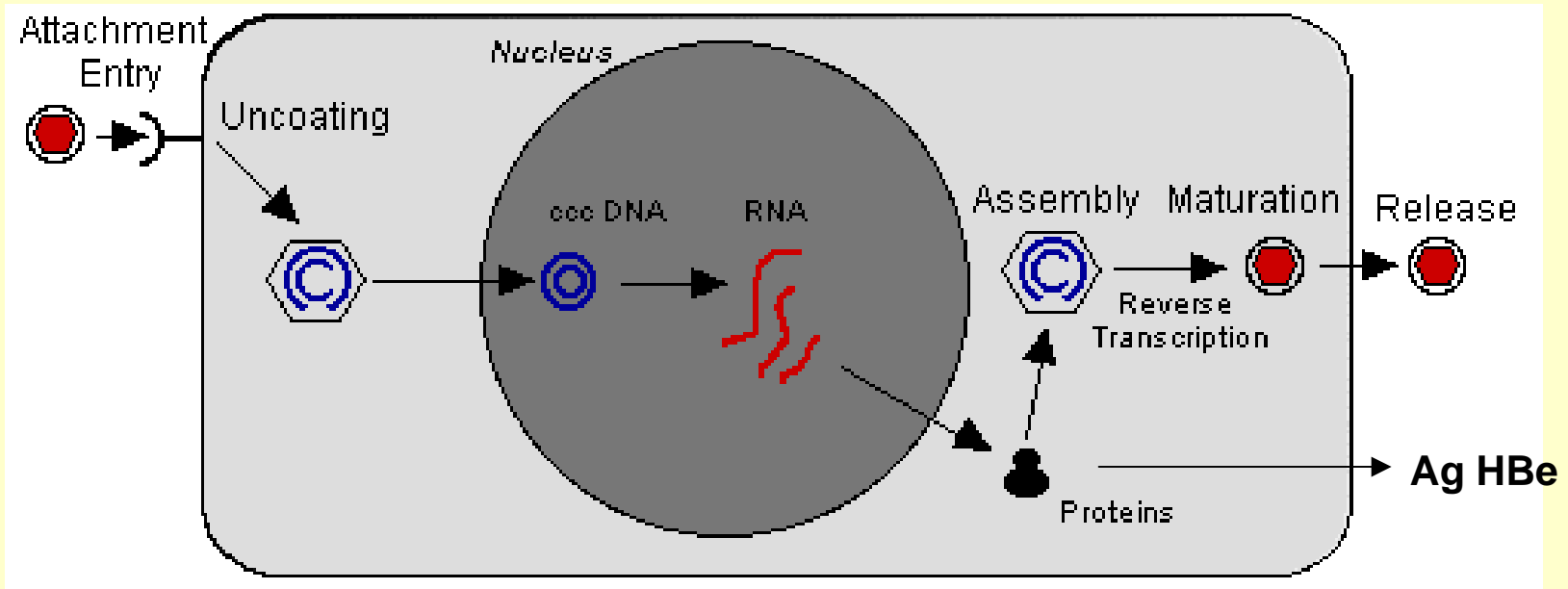
Filamentous particle  
Up to 200nm long

## HBV

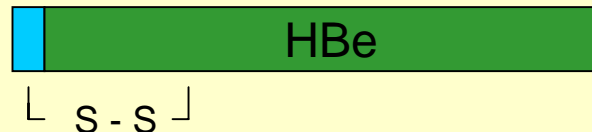


Spherical particle  
~20nm diameter

# Hépatocyte infecté par HBV

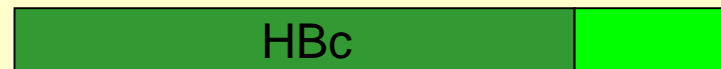


Ag HBe et Ag HBc :



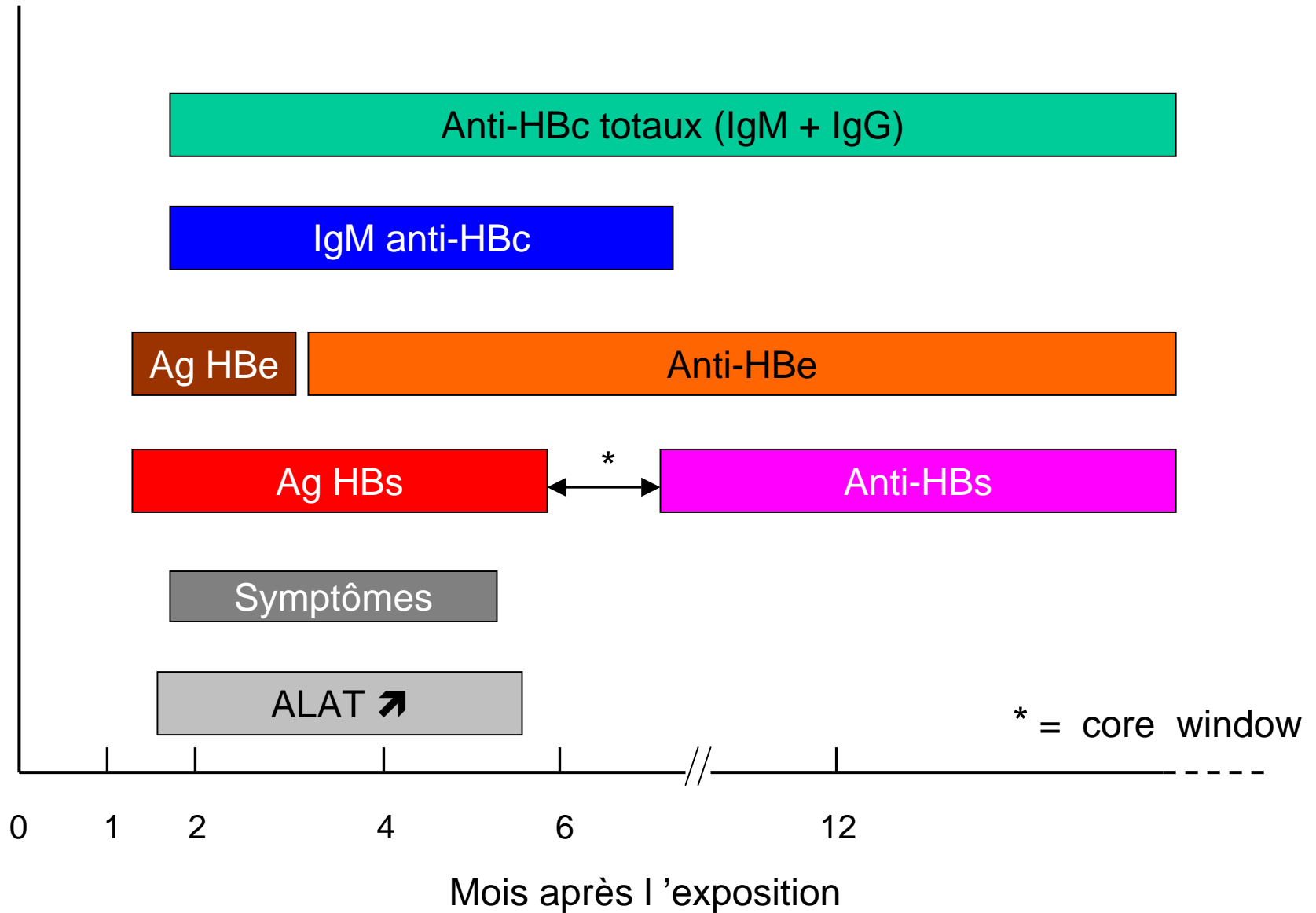
soluble  
(plasma)

conformation différente  $\Rightarrow$   
 $\emptyset$  réaction croisée dans  
 l'immunité humorale

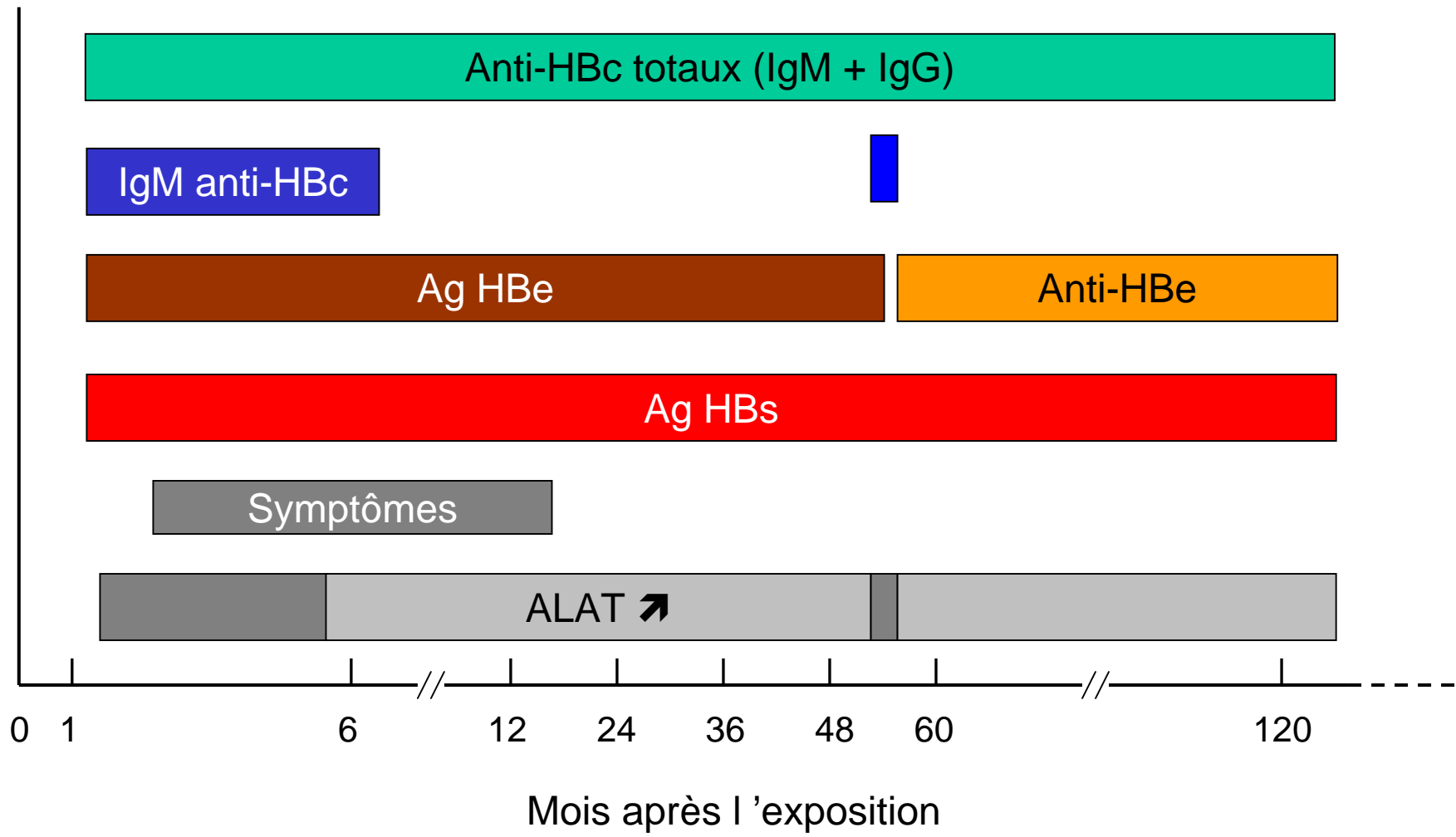


insoluble  
(nucléo-  
capside)

# Hépatite B aiguë



# Hépatite B chronique



## Detection des IgM anti-HBc

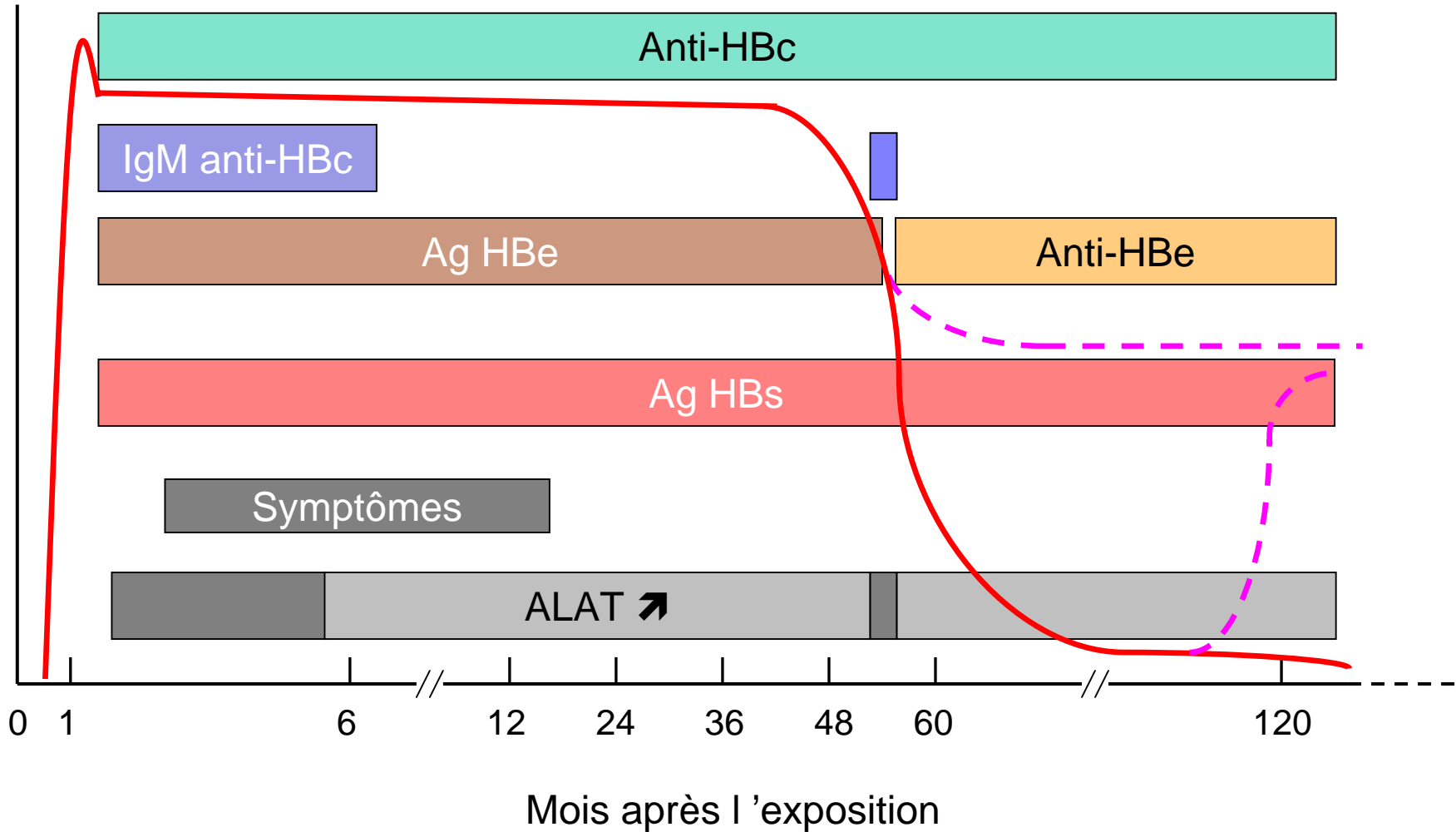
- pendant la phase aiguë de l'hépatite B
- pic lors de la séroconversion HBeAg + / anti-HBe -  
→ HBeAg - / anti-HBe +
- en cas de réactivation lors d'une hépatite B chronique
- pic lors de l'éventuelle apparition du mutant pre-core de HBeAg
- hépatite B fulminante (parfois HBsAg - et virémie basse !)

Rappel: EIAs are deliberately made insensitive, so that only peaks of anti-IgM during the acute phase(s) of infection are detected (otherwise anti-HBc IgM would be detectable also in chronic infection).

Ex. Elecsys Anti-HBc IgM :

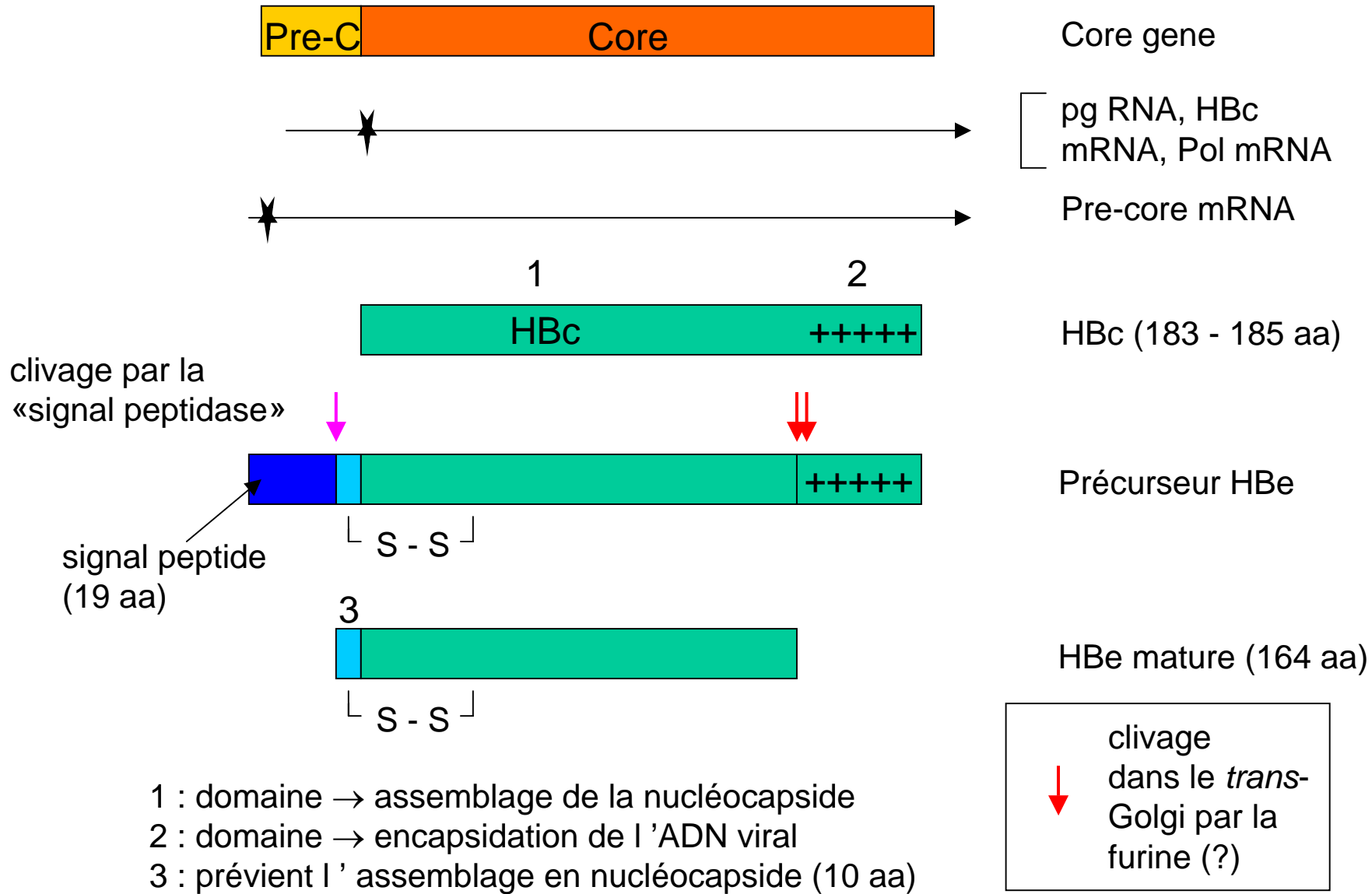
analytical sensitivity, 3.0 PEI U/ml; clinical cutoff, 100 PEI U/ml.

# Hépatite B chronique

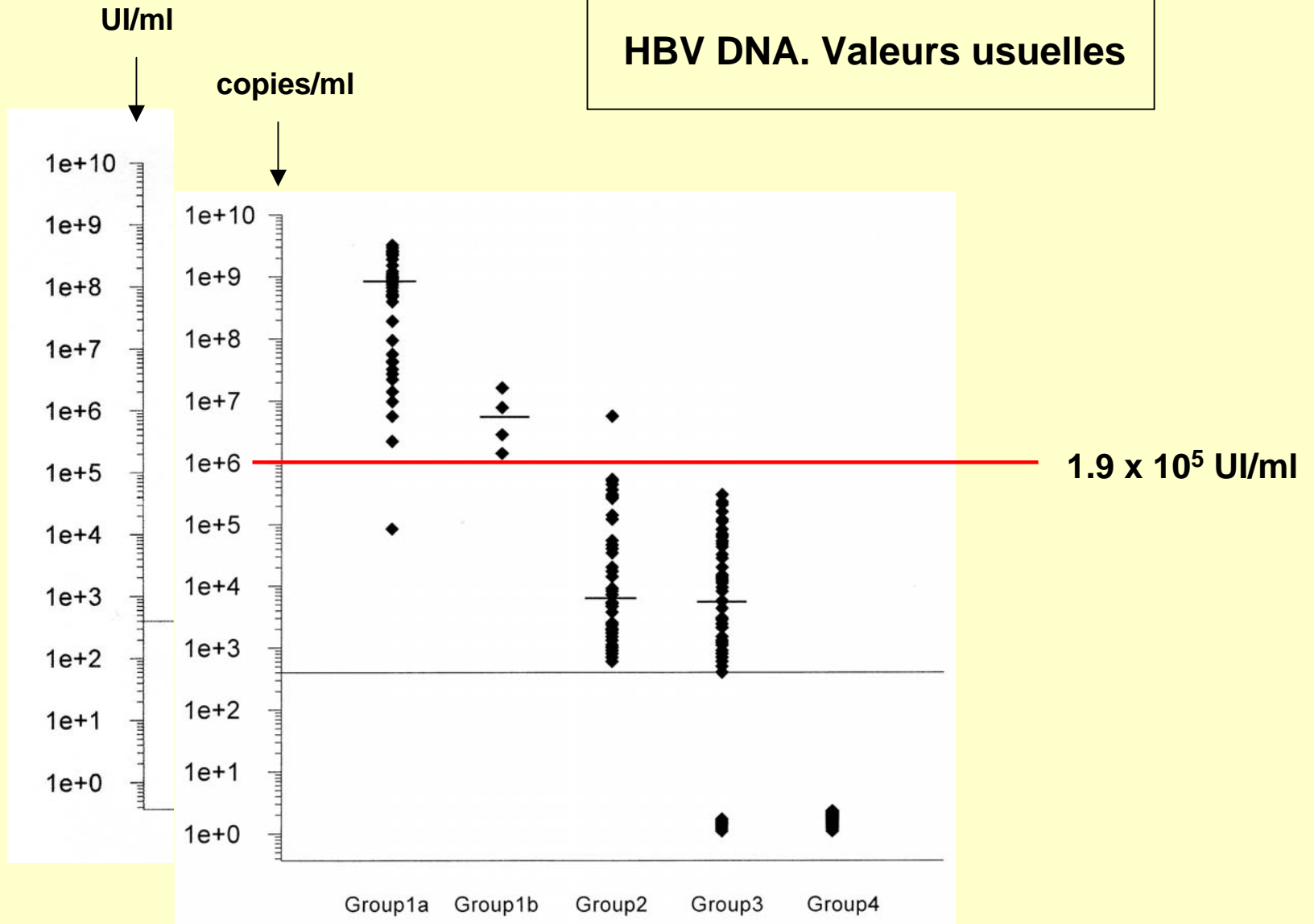


- ADN de HBV par PCR (HBV wt)
- - - ADN de HBV par PCR (HBV avec mutation « precore » ou « core promoteur »)

... GGG TGG CTT TGG GGC ATG ... nt 1896 G → A ⇒ Trp → STOP



# HBV DNA. Valeurs usuelles



**HBeAg+**  
**Chronique active**

**HBeAg-**  
**Chronique inactive**

## Les 3 paramètres de dépistage : signification de leurs diverses combinaisons

---

|          |   |   |   |   |   |
|----------|---|---|---|---|---|
| HBs Ag   | + | + | - | - | - |
| Anti-HBs | - | - | + | + | - |
| Anti-HBc | - | + | + | - | + |

---

|            |   |                            |                              |         |                   |
|------------|---|----------------------------|------------------------------|---------|-------------------|
| Diagnostic | <b>1.</b> Hépatite B aiguë (1ers 15 j.) | Hépatite B aiguë ou chron. | Ancienne hépatite B «guérie» | Vacciné | Anti-HBc "isolés" |
|            | <b>2.</b> 1-3 jours post-vaccin         |                            |                              |         |                   |

---

## Isolated anti-HBc (HBsAg neg, anti-HBs neg, anti-HBc pos) (1)

### 1. **False-positive anti-HBc**

*Mostly low-titered IgM (and IgA)      Often weakly reactive*

Role of sample pretreatment with -S-S- reducing agents (DTT,  $\beta$ -ME, Cys,  $S_2O_5^{2-}$ )

**Specificity of the Roche Elecsys assay : 99.8 % in blood donors ;**

**97.7 % in hospitalized patients** negative for other serological HBV markers.

## Isolated anti-HBc (HBsAg neg, anti-HBs neg, anti-HBc pos) (2)

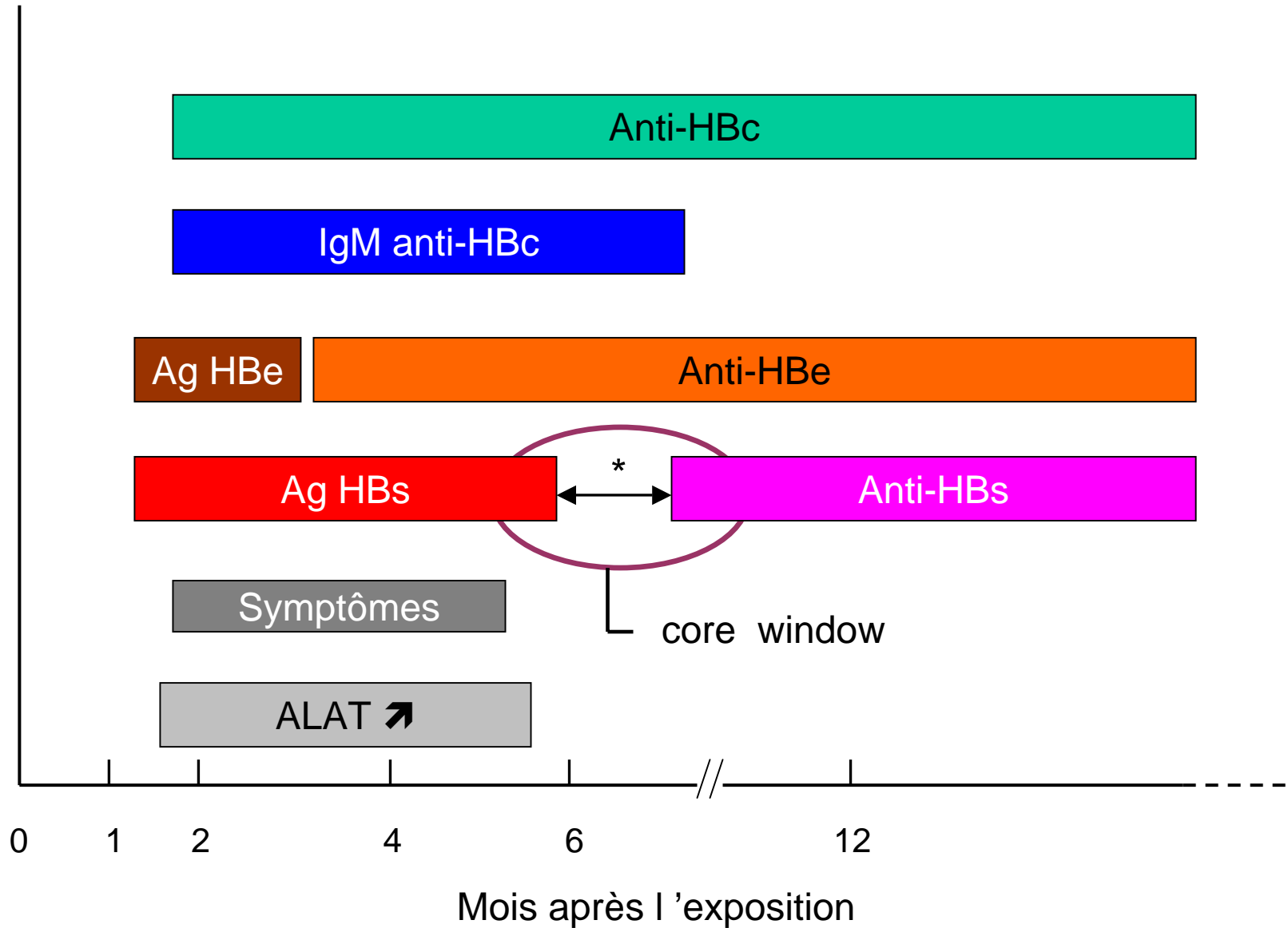
### 2. Expression of an actual or a past hepatitis B

*Mostly IgG*

*Often strongly reactive*

- **Last sign of an ancient and resolved hepatitis B** (after disappearance of anti-HBs and anti-HBe)
- **“Core window”** (late phase of acute hepatitis B)
- **False-negative HBsAg result in spite of normal level**
  - HBsAg natural variant (5 % in New Guinea)
  - HBsAg immune escape mutant (vaccination, prophylaxis with anti-HBs Ig)

# Hépatite B aiguë



## Isolated anti-HBc (HBsAg neg, anti-HBs neg, anti-HBc pos) (2)

### 2. **Expression of an actual or a past hepatitis B**

*Mostly IgG*

*Often strongly reactive*

- **Last sign of an ancient and resolved hepatitis B** (after disappearance of anti-HBs and anti-HBe)
- **“Core window”** (late phase of acute hepatitis B)
- **False-negative HBsAg result in spite of normal level**
  - HBsAg natural variant (5 % in New Guinea)
  - HBsAg immune escape mutant (vaccination, prophylaxis with anti-HBs Ig)

- **Low level or absence of HBsAg**
  - **suppression of HBV replication by HCV** (role of core protein)
  - mutations in the *pol* protein  $\Rightarrow$  low level of replication
  - fulminant hepatitis B (anti-HBc **IgM**)
  
- **False-negative anti-HBs result**
  - Abs directed to special HBsAg serotypes/mutants/variants
  
- **Low level or absence of anti-HBs**
  - “lacunar immunodeficiency”
  - immunosuppression (e.g. transplant patient with ttt, renal insufficiency)
  
- **Concomitant HIV infection** (mechanism ?)

## Persistence de HBV. Hépatite B « occulte ».

1. Les **“anti-HBc isolés”** (= HBsAg nég, anti-HBs nég., anti-HBc pos.) **peuvent être des faux-positifs ou au contraire témoigner d’une ancienne hépatite guérie ou encore d’une hépatite B en cours.** Cette dernière éventualité est relativement fréquente en cas de co-infection par HCV, HIV ou chez des patients immunodéprimés; une PCR pour HBV DNA s’avère alors souvent positive, avec une virémie basse (< 600 UI/ml).
2. **Même chez des patients avec ancienne hépatite B aiguë et guérie depuis des années** (anti-HBs, anti-HBe et anti-HBc pos), chez qui les aminotransférases plasmatiques et les tests hépatiques sont normaux, on peut détecter dans les hépatocytes de très faibles quantités de HBV DNA, y compris sous des formes (cccDNA, RNA pré-génomique) indiquant la **persistance d’une répllication à un niveau très bas !**

## « Occult » HBV infection      **RARE !**

**Presence of generally low levels of HBV DNA (PCR+ in plasma, liver, or PBMC)**

**If** HBV DNA detectable in plasma :

|                               |             |
|-------------------------------|-------------|
| - anti-HBs pos / anti-HBc pos | viremia ++  |
| - anti-HBc alone              | viremia +++ |
| - seronegative                | viremia +   |

**Perform HBV DNA PCR** only if signs of chronic hepatitis without other etiology

### **Host-related factors**

Viral-related factors

Conjeevaram H.S. and Loh A.S., Hepatology **34** (2001) 204-206

Bréchet C. et al., Hepatology **34** (2001) 194-203

# Virémie HBV par PCR

## 1. Changement d'unités

- 1 kcopie/ml = 1'000 copies/ml = 190 UI/ml
- résultat en UI/ml divisé par 190 → résultat en kcopies/ml
- 1UI/ml = 5.26 copies/ml

## 2. Notation « scientifique »

$$E+n = x 10^n$$

- 5.62 E+5 UI/ml = 5.62 x 10<sup>5</sup> UI/ml = 562'000 UI/ml
- 7.82 E+1 UI/ml = 7.82 x 10<sup>1</sup> UI/ml = 78 UI/ml

# Virémies HBV et HCV par PCR (Roche Cobas AmpliPrep/TaqMan)

