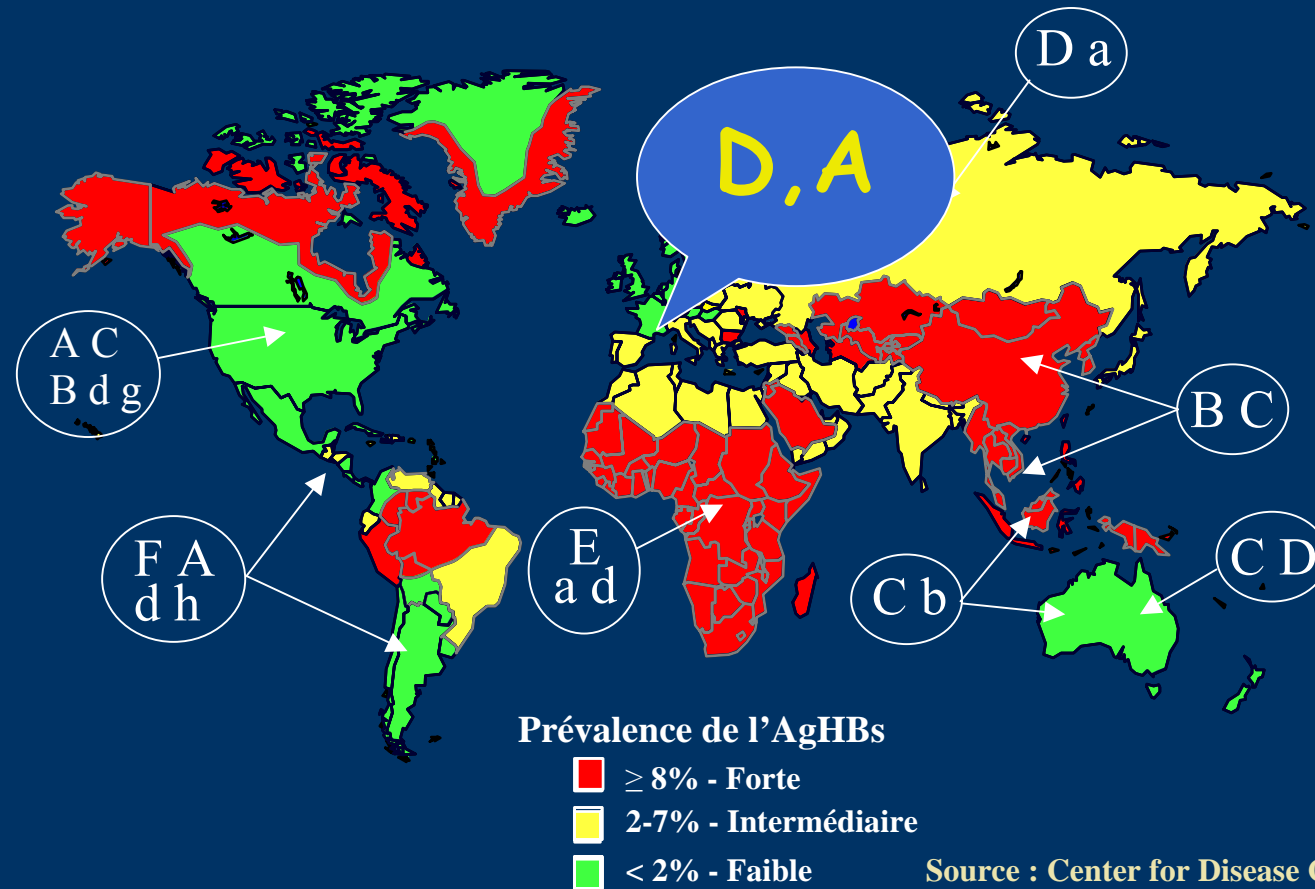


Diversité génétique du VHB
chez les donneurs de sang
Impact sur le dépistage

Annabelle Servant-Delmas

Unité d'Expertise en Virologie - CNR des hépatites B et C en transfusion
Département des Agents Transmissibles par le Sang
Institut National de la Transfusion Sanguine

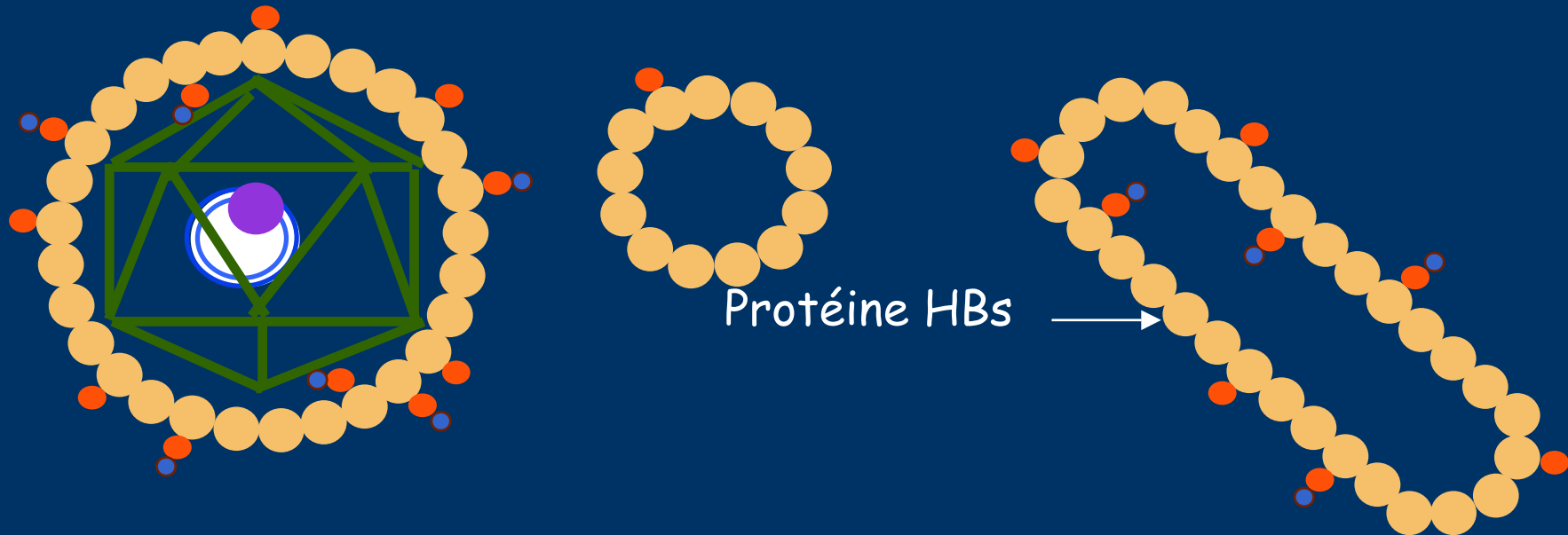
Répartition géographique des génotypes du VHB



Halfon et al. 2006 Porteurs chroniques non traités recrutement hospitalier 1993-2002 (262 patients)

Laperche et al. Extrapolation des sérotypes de l'AgHBs en génotypes chez les donneurs de sang 1998-2004

L'AgHBs



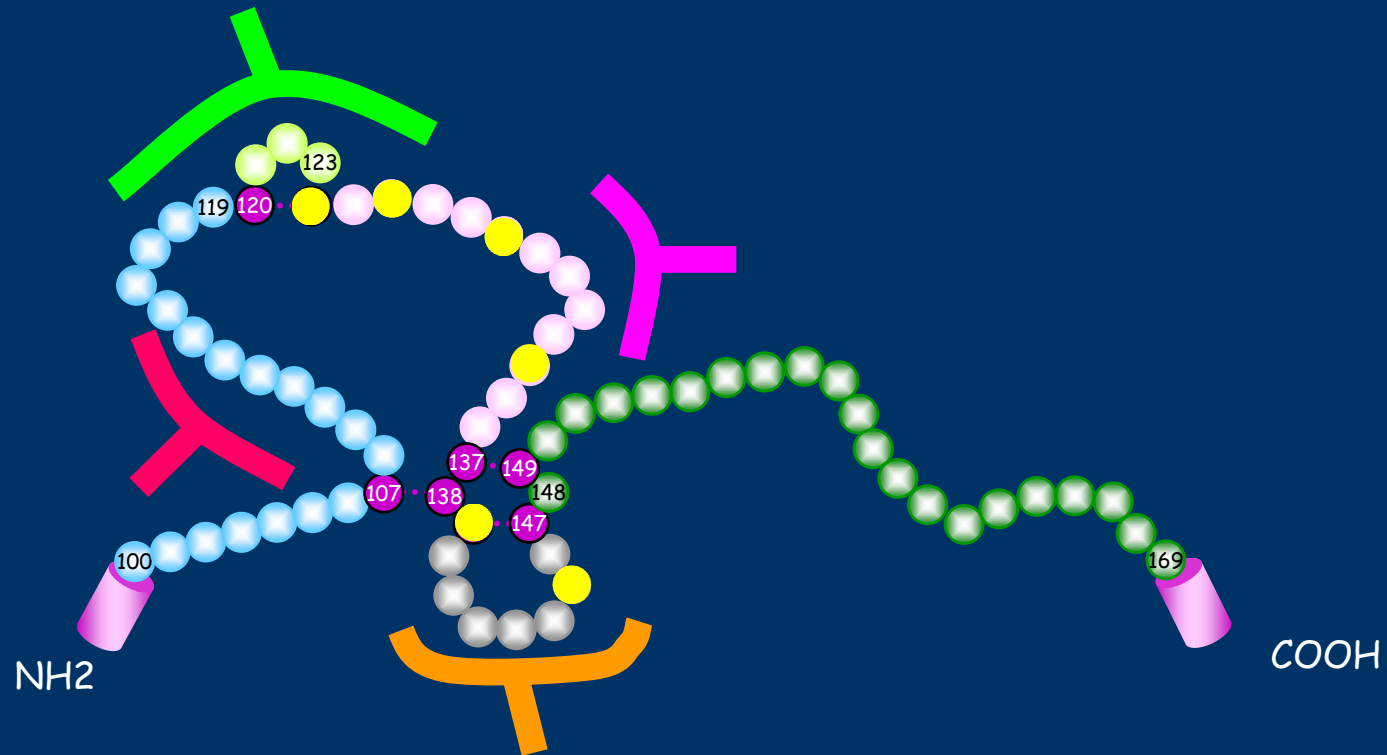
Région hydrophile majeure (aa 100-170)

- Exposée à la surface du virus
- Epitopes majeurs de neutralisation

Emergence de variants de l'enveloppe sous pression de sélection

- Système immunitaire lors d'infection chronique
- Vaccin, Immunothérapie passive, Thérapeutique

Mutations de la région hydrophile majeur de l'AgHBs



Impact diagnostique (trousses de détection de l'AgHBs)

- Sensibilité identique à une souche sauvage
- Diminution de sensibilité = sous-estimation du titre
- Absence de détection = faux négatif

But du travail

Diversité génétique du VHB en France chez les donneurs de sang 2005

Prévalence des variants de l'enveloppe

Impact sur le dépistage

Patients et Méthodes

- **Patients** - Donneurs de sang **AgHBs positifs**

Tests de 1ère intention: AgHBs Prism (Abbott), AgHBs Plus Monolisa ou Ultra (Biorad)

Tests de 2ème intention: AgHBs Prism, AxSYM (Abbott), Behring
AgHBs Plus Monolisa ou Ultra (Biorad)

- France métropolitaine

- Année 2005

- **Méthode de Génotypage**

PCR maison du gène S partiel (MHR aa 100 à 180)

Séquençage direct

Analyse phylogénétique: Alignement (Clustal W)

Matrice de Distances (modèle évolutif Kimura 2)

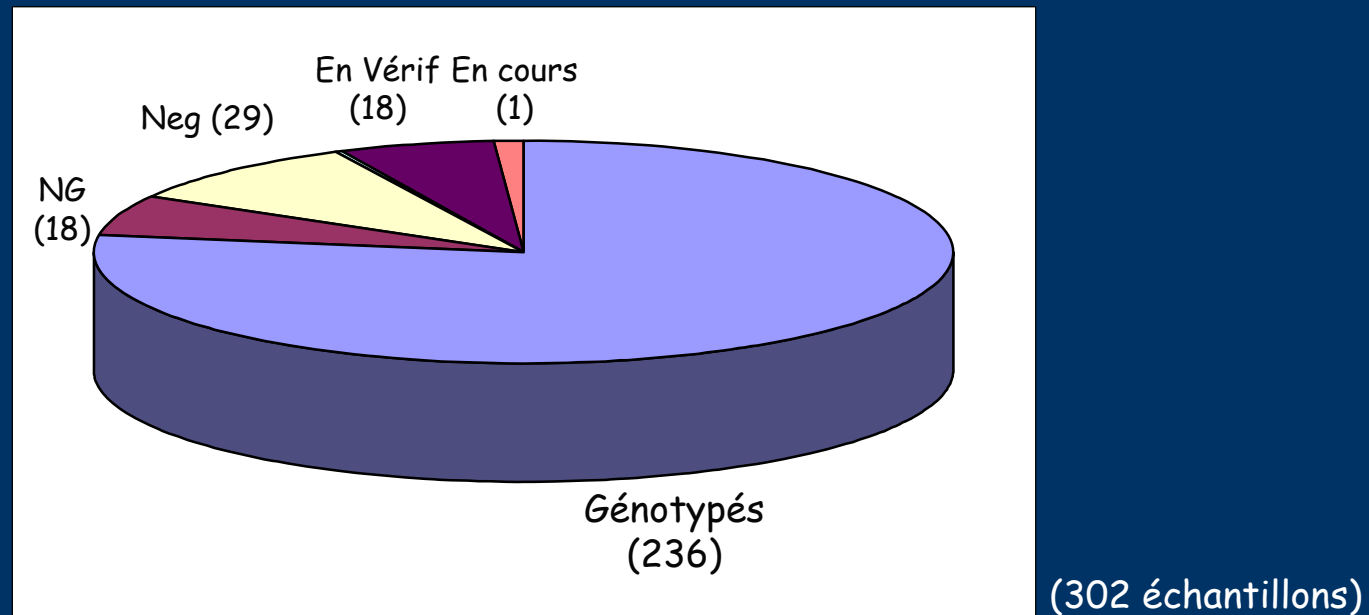
(Package Phylip - reconstruction de l'arbre par Neighbor-joining)

- **Marqueurs sérologiques et sérotypage**

- **Détermination de la charge virale** (Cobas TaqMan HBV test - Roche SD 6UI/ml)

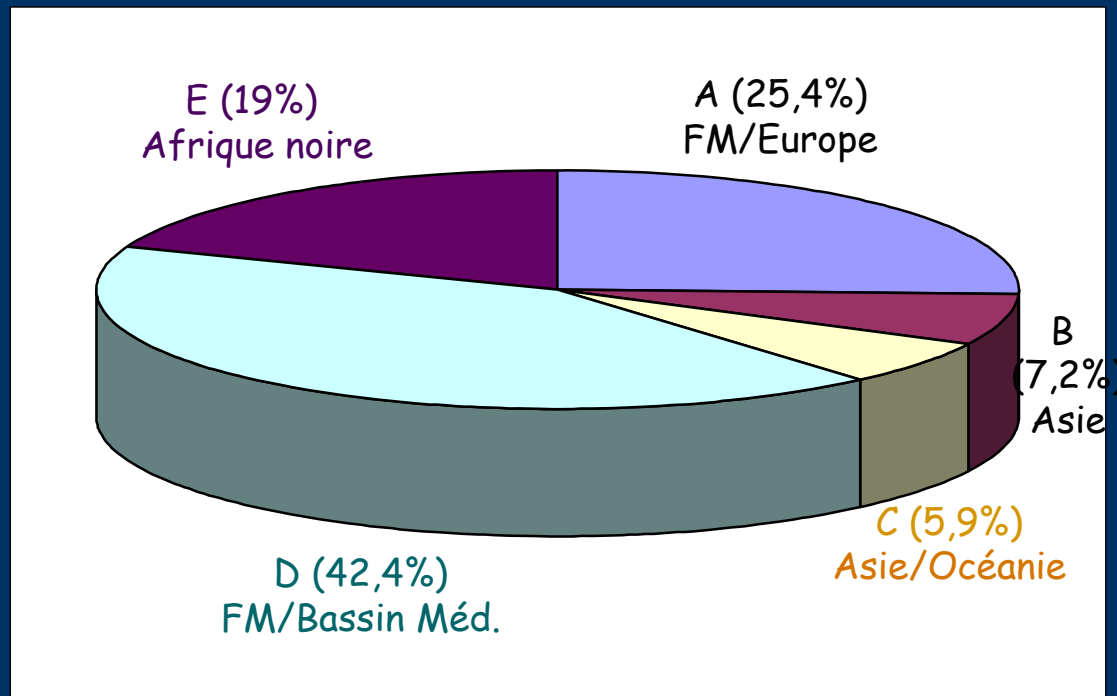
Résultats - Année 2005

- **Résultats partiels:** 302 cas/313 AgHBs+ déclarés
 - 83,4% des échantillons testés en PCR « S » sont **génotypés** (n=236)
 - 10,2% des échantillons sont négatifs en PCR « S » (n=29)
 - 6,3% des échantillons positifs en PCR « S » sont non génotypables (n=18)



Résultats - Année 2005

- Distribution des génotypes VHB (236 échantillons géotypés)



Corrélation avec le sérotypage: 3 discordances (1,2%)
(dont 2 avec des mutations)

Variants VHB - Donneurs de sang AgHBS+

- Variabilité des séquences:

- Mutations observées mais non documentées: 12,7% (n=30)

- Populations mixtes suspectées mais non explorées: ~ 7,6% (n=18)

Halfon et al.2006 16% d'infections mixtes de 2 à 4 génotypes
(INNO-LiPA HBV Genotyping, Innogenetics)

- Prévalence des variants de l'AgHBs: 5% (n=12)

Mutations observées et décrites comme

- affectant le diagnostic: T118A, P120T, T131I, M133I, Y134N, D144E

- échappant à la vaccination ou aux Ig: Q129H, I126N, S143M, G130R

Hépatites B occultes - Donneurs de sang

ADN-VHB (QPCR Roche) - Donneurs de sang AgHBs négatif/Anti-HBc+

Anti HBe	Anti HBs	Total	HBV-DNA Positive			
			Negative	Screening	Second testing n positive/n tested	
+	-	13	12	1	0/1	
+	+	641	618	23	1/18	
-	+	315	310	5	2/4	
-	-	31	29	2	1/2	
Total		1000	969 (96.9%)	31 (3.1%)	4/25 (0.4%)	

↓
1 éch confirmé en QPCR Abbott
sur 3 testés

27 testés et nég en PCR « S »
Pas de séquences

Panel de protéines S de variants naturels et recombinants

- **Clonage des protéines S de variants naturels et recombinants**
Panel composé de 11 variants naturels (donneurs de sang, patients traités...)
et de 3 obtenus par mutagénèse dirigée
à compléter ...
- **Production des protéines *in vitro* : *en cours ...***
 - Transfection en cellules HuH7
 - Calibration des stocks de protéines produites

*Comparaison de différents tests AgHBs
vis à vis du panel de variants*

Remerciements

Unité de Virologie Transfusionnelle - INTS

Syria Laperche, Annie Girault, Catherine Jourdain, Mélanie Mercier,
Françoise Bouchardeau, Rémi Caparros, Christine Portal, Annie Razer

Sites EFS de France métropolitaine

CTSA

Unité de Virologie Fondamentale - INTS

Camille Sureau