

# **Hépatite C**

## **Utilisation critique des outils virologiques**

**Dr P. Deltenre**  
**Hôpital de Jolimont**  
**CHU Lille**



# **Outils virologiques**

---

**1. Quels sont-ils ?**

**2. Quand et comment s'en servir ?**

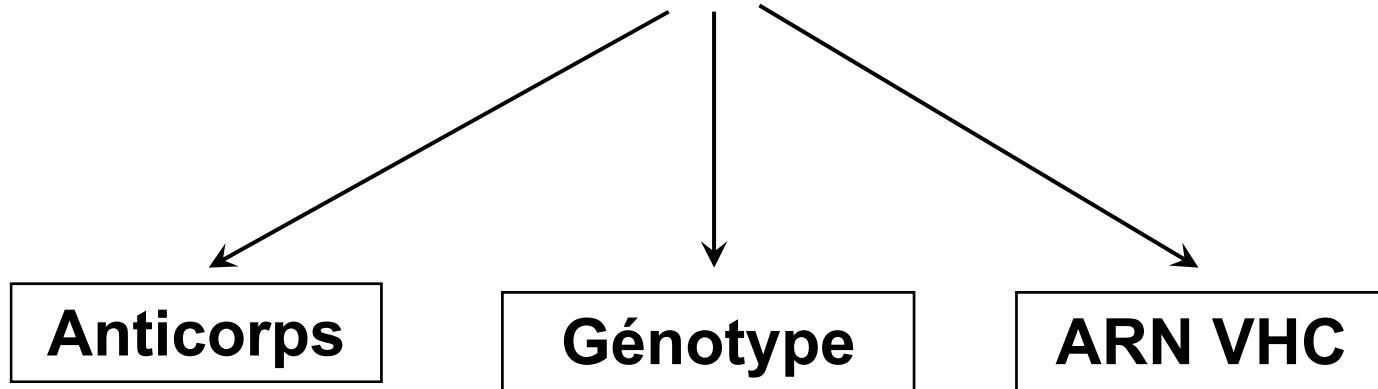
# Outils virologiques

---

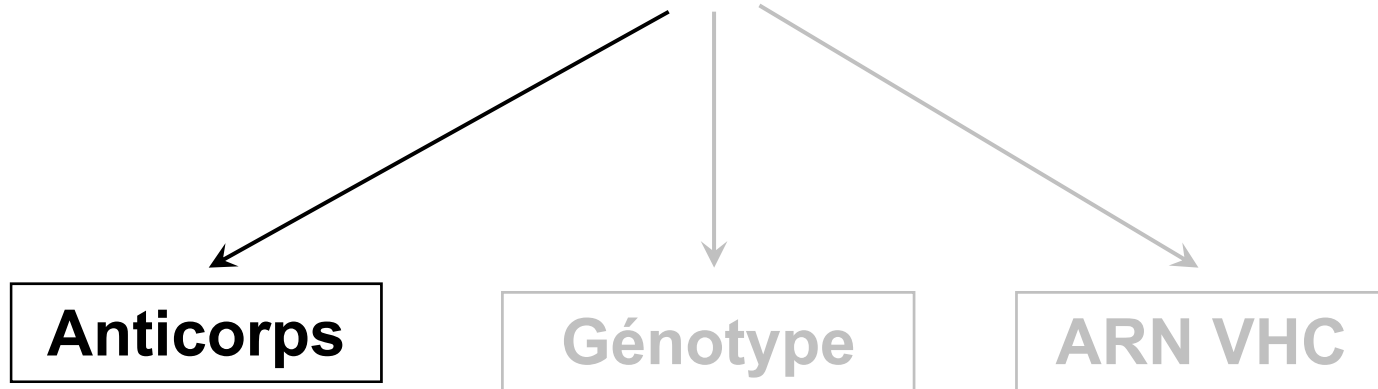
**1. Quels sont-ils ?**

2. Quand et comment s'en servir ?

# Outils virologiques

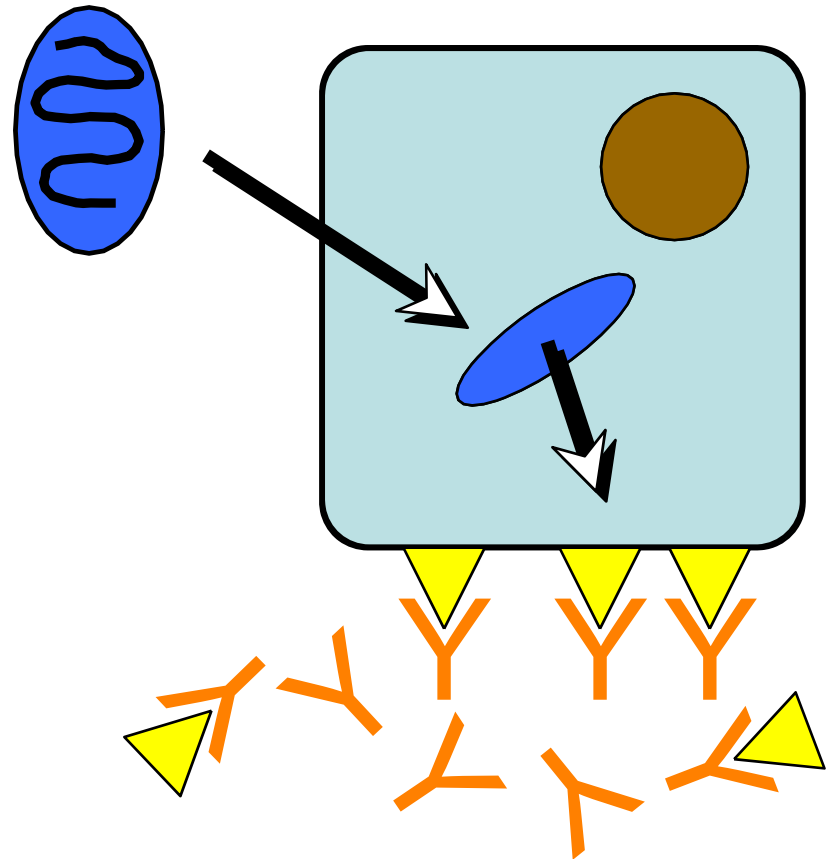


# Outils virologiques



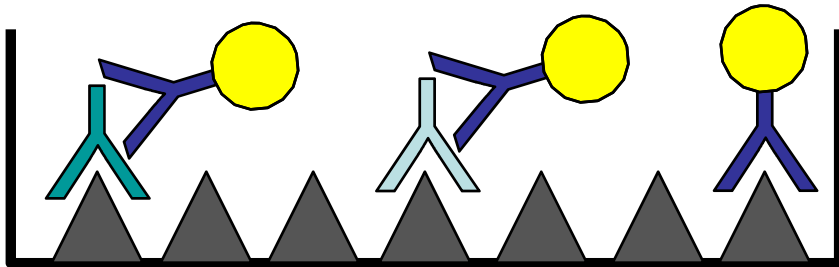
# Ac anti-VHC

- Infection de l'hépatocyte
- Protéines virales exprimées à la surface des cellules
- Ac spécifiques anti-VHC
- PAS d'immunité conférée par les Ac anti-VHC



# Tests sérologiques anti-VHC

- Test ELISA (3ème génération)
  - Détecte les Ac circulants
  - Spécificité : 99%
  - Sensibilité : 97% à 100%
- Faux négatifs
  - Immunosuppression
  - Malades transplantés
  - IRC et dialyse (rare)
  - Malade VIH (rare)
- Faux positifs
  - Maladies auto-immunes
  - Guérison spontanée

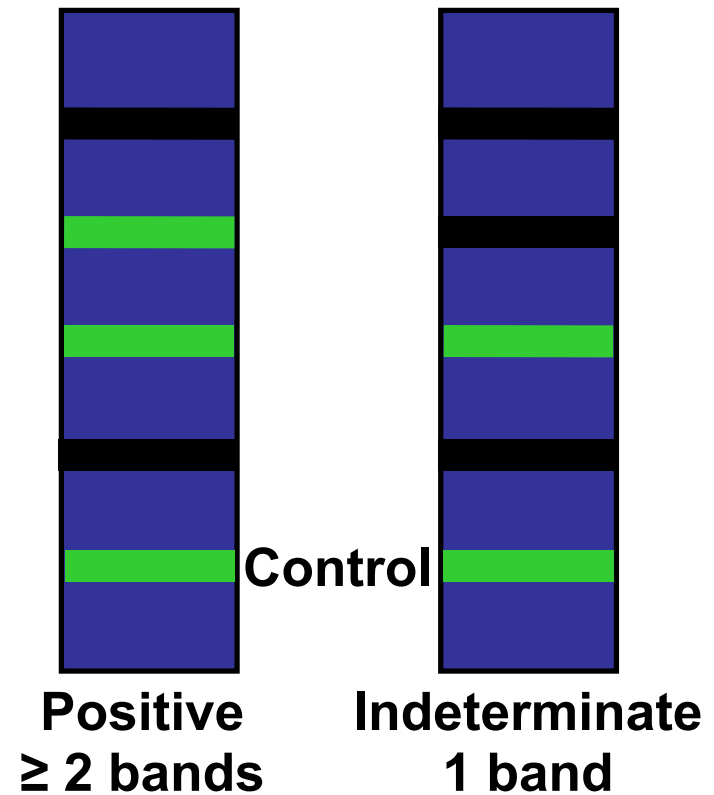


*NIH Management of Hepatitis C Consensus Conference Statement. June 10-12, 2002. Available at: <http://consensus.nih.gov/2002/2002HepatitisC2002116html>.*

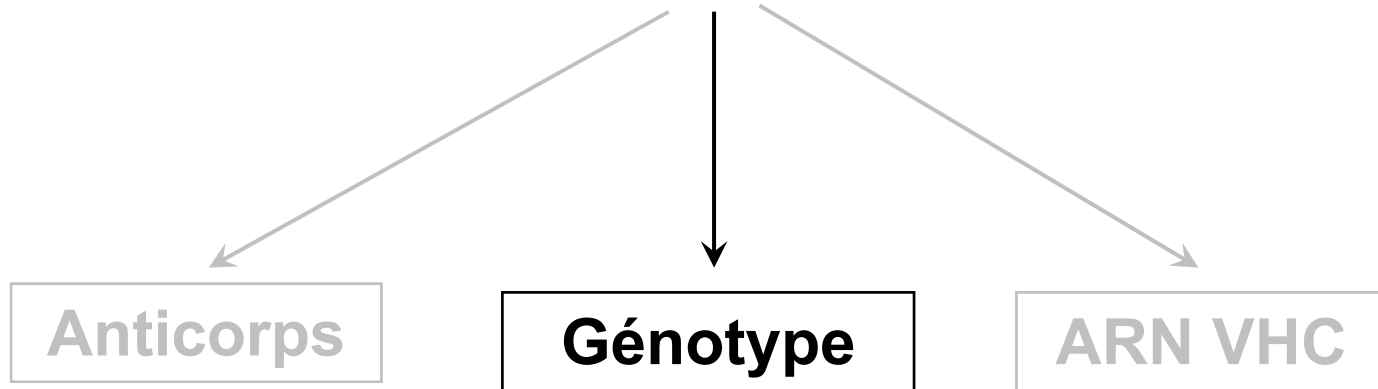
*Carithers RL Jr, et al. Semin Liver Dis. 2000;20: 159-171. Pawlosky JM. Hepatology. 2002;36(suppl 1):S65-S73.*

# Tests sérologiques anti-VHC

- Test IMMUNUBLOT
  - Permettent d'identifier la spécificité des Ac anti-VHC
  - Détecte des Ac pour 4 protéines virales
  - Test de confirmation
  - Remplacé par la recherche de l'ARN



# Outils virologiques



# Notions virologiques importantes

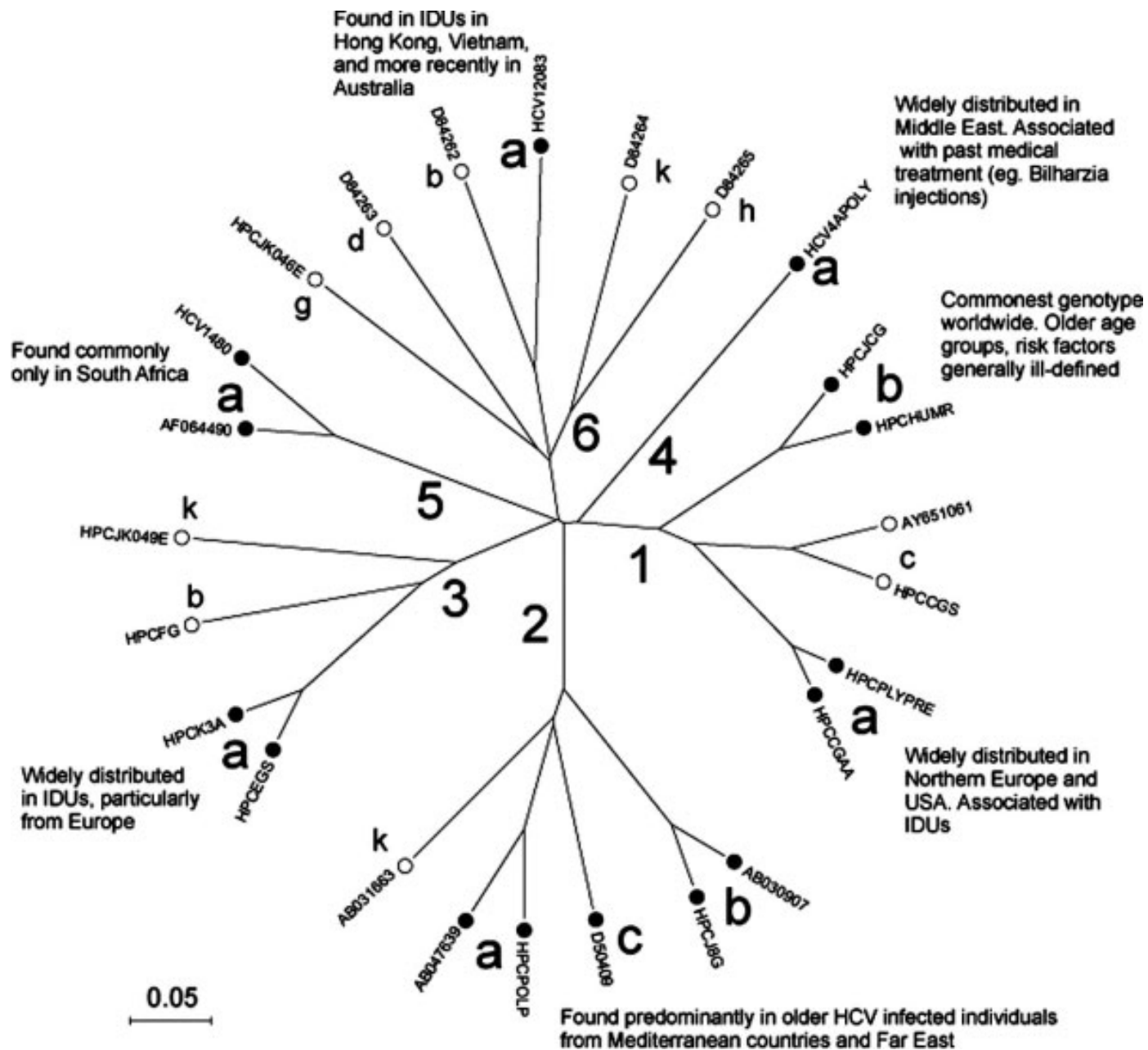
---

- Réplication virale  $\leftrightarrow$  ARN polymérase *dépourvue d'activité correctrice*
- Accumulation des erreurs de lecture  $\rightarrow$  mutations
- Mutations sélectionnées au sein de populations de malades
  - $\rightarrow$  **Génotype**
- Mutations sélectionnées au sein d'un malade infecté
  - $\rightarrow$  **Quasiespèces**
  - $\rightarrow$  *Susceptibles de favoriser l'émergence de mutants résistants*

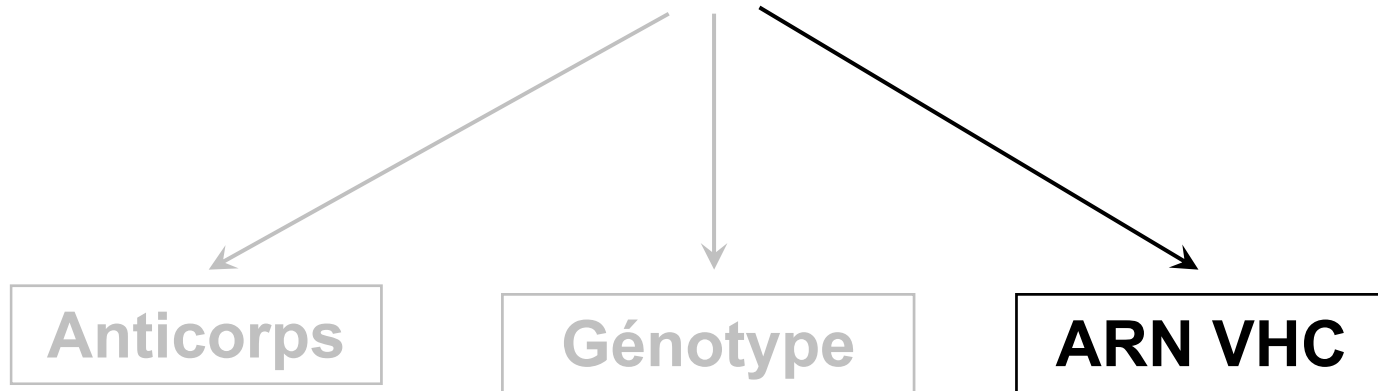
# Détermination du génotype

---

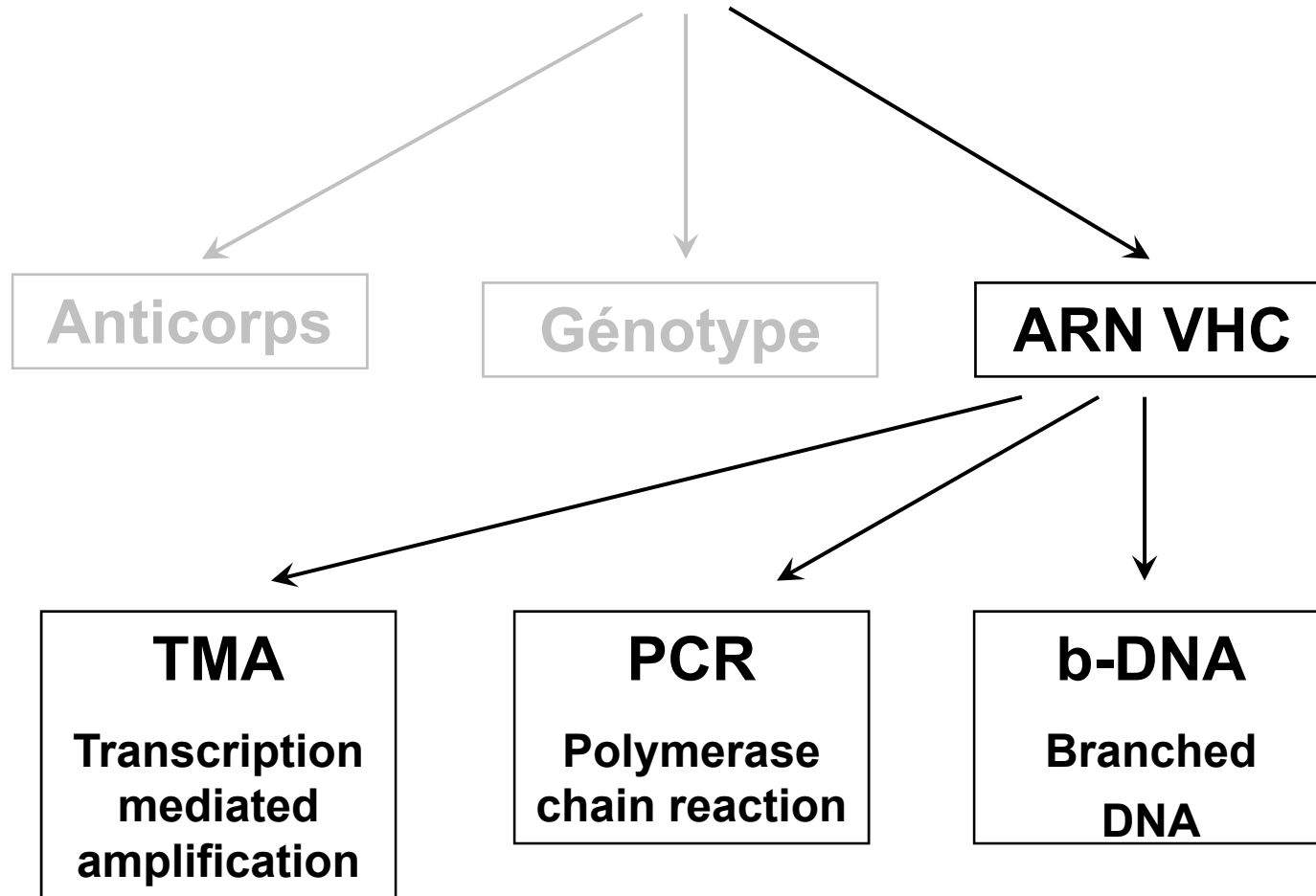
- Méthodes moléculaires (génotypage)
  - Méthode de référence
  - Séquençage direct des régions NS5B ou E1 du génome viral
  - Rare erreurs de génotypage – 10-25% erreurs de sous-typage
- Méthodes sérologiques (sérotypage)
  - Utilisation d'Ac spécifiques des 6 génotypes (ELISA)
  - Ne permet pas la détermination des sous-types
  - 10% erreurs de sérotypage

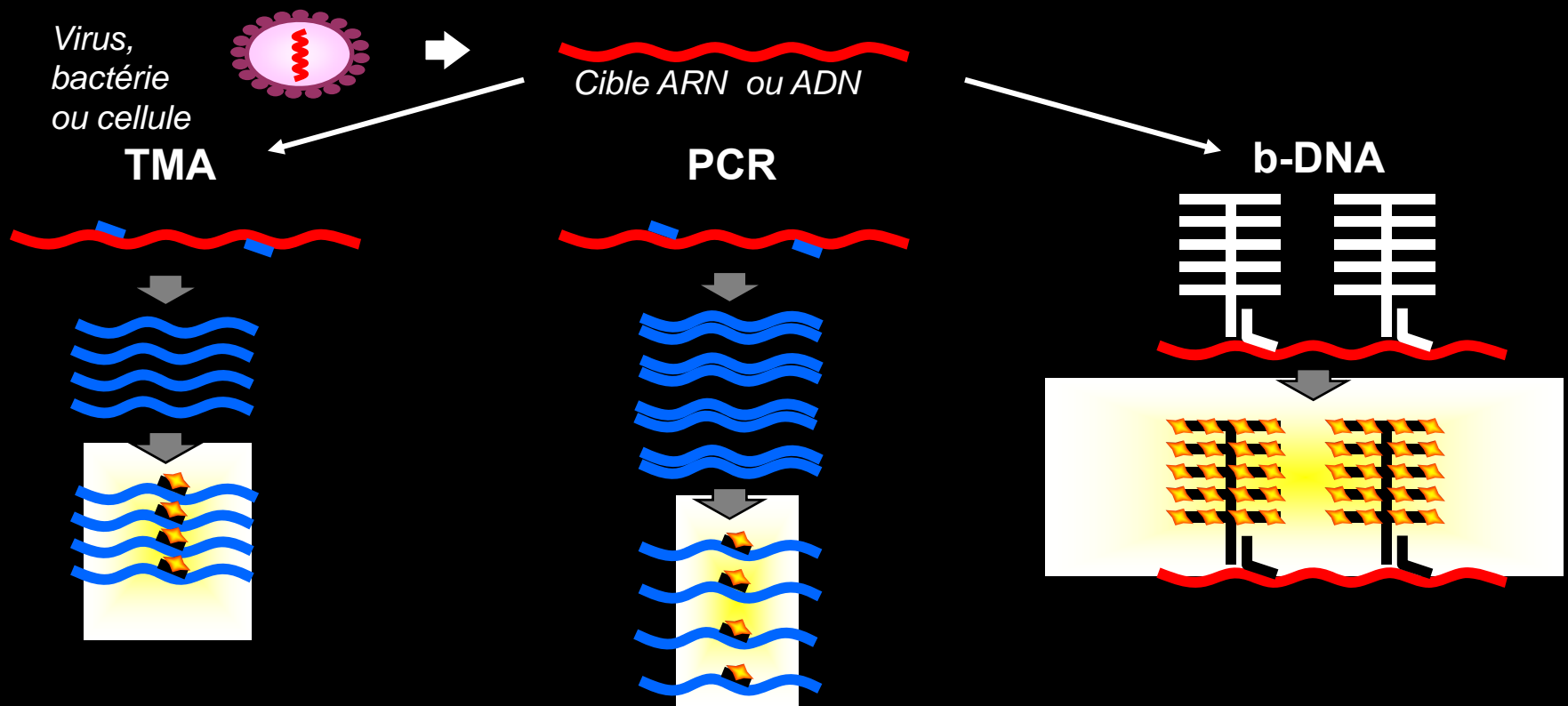


# Outils virologiques



# Outils virologiques





**Test qualitatif :**

- Versant TMA Bayer (10 UI/ml)

**Test qualitatif :**

- Cobas Amplicor HCV 2.0 Roche (50 UI/ml)

**Tests quantitatifs :**

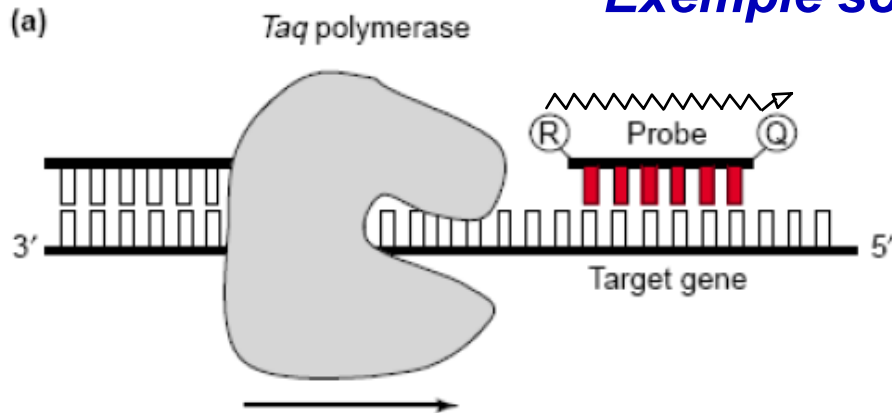
- Cobas Amplicor HCV Monitor Roche (600 UI/ml)
- LCx HCV RNA Abbott (23 UI/ml)
- RealTime HCV Abbott (PCR temps réel) (12 UI/ml)
- Cobas TaqMan HCV Roche (PCR temps réel) (15 UI/ml)

**Test quantitatif :**

- Versant HCV 3.0 Bayer (615 UI/ml)

# Principes de la PCR en temps réel

## Exemple sonde d'hydrolyse Taqman

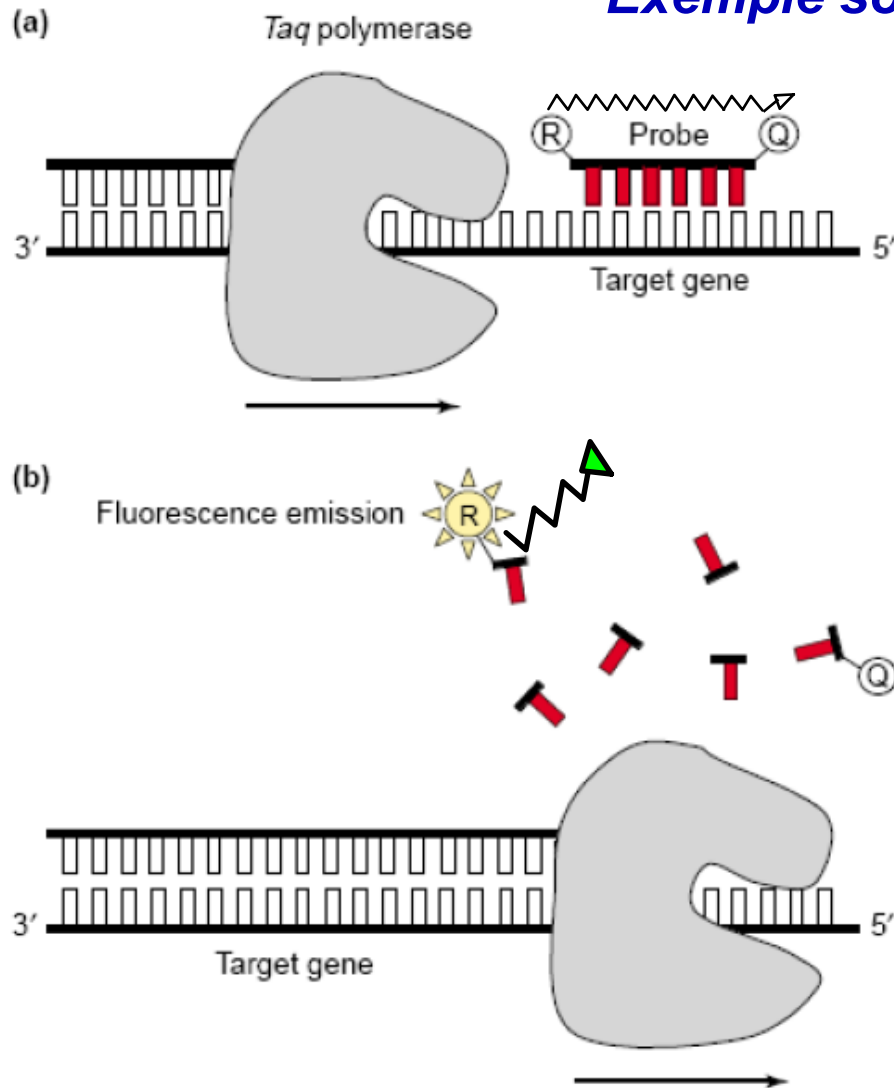


Phase d'hybridation : sonde attachée à la séquence ; pas d'émission de fluorescence (quenching)

*R = Reporter*  
*Q = Quencher*

# Principes de la PCR en temps réel

## Exemple sonde d'hydrolyse Taqman



Phase d'hybrivation : sonde attachée à la séquence ; pas d'émission de fluorescence (quenching)

Phase d'élonguation : clivage Reporter - Quencher par la polymérase et émission d'un signal

L'intensité du signal de fluorescence est mesurée à chaque cycle et est proportionnelle à la quantité d'ADN polymérisé

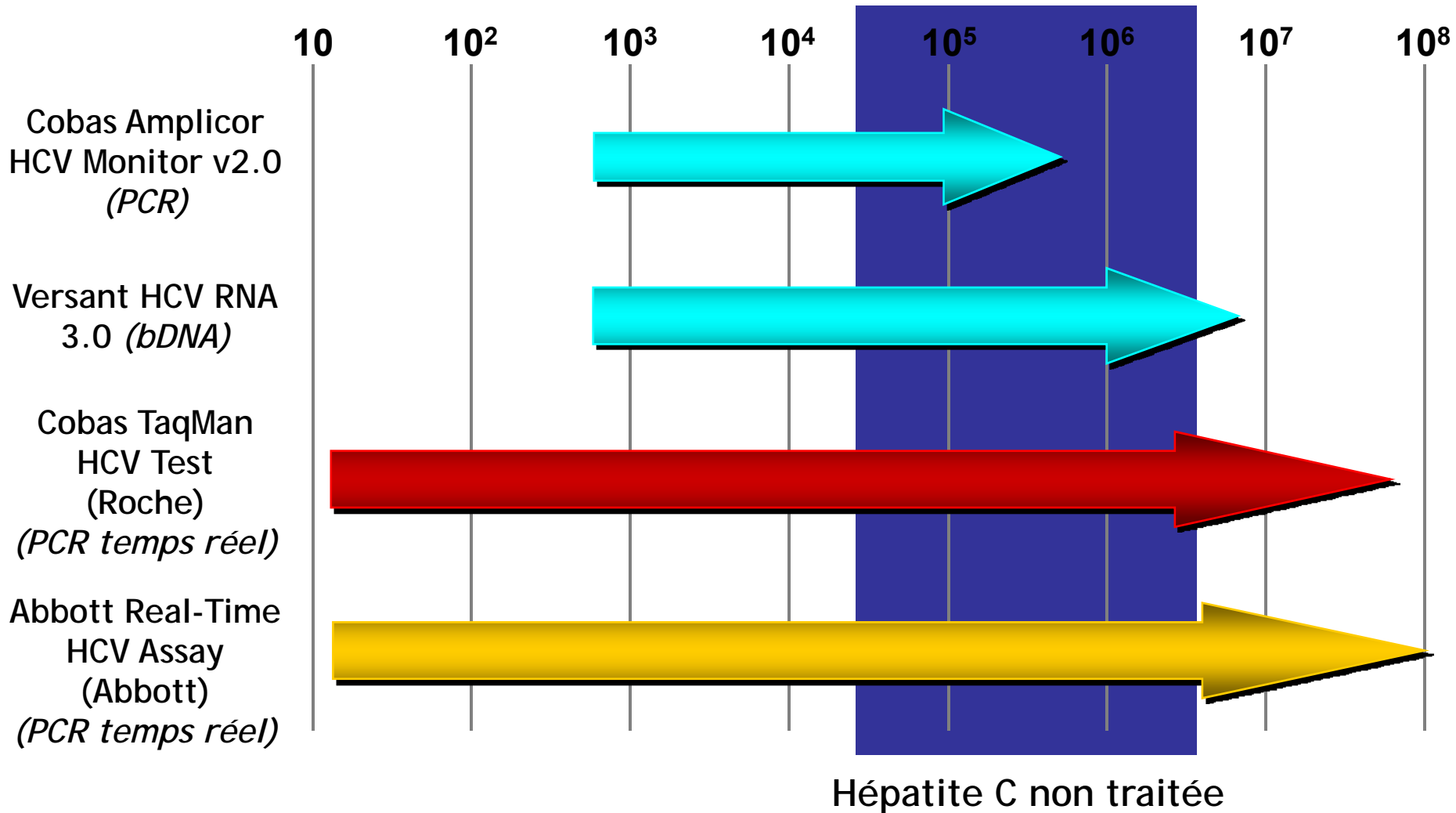
*R = Reporter*  
*Q = Quencher*

# PCR en temps réel : Avantages

---

- Pas de contamination
- Précise et reproductible
- Sensibilité augmentée
- Echelle large de quantification

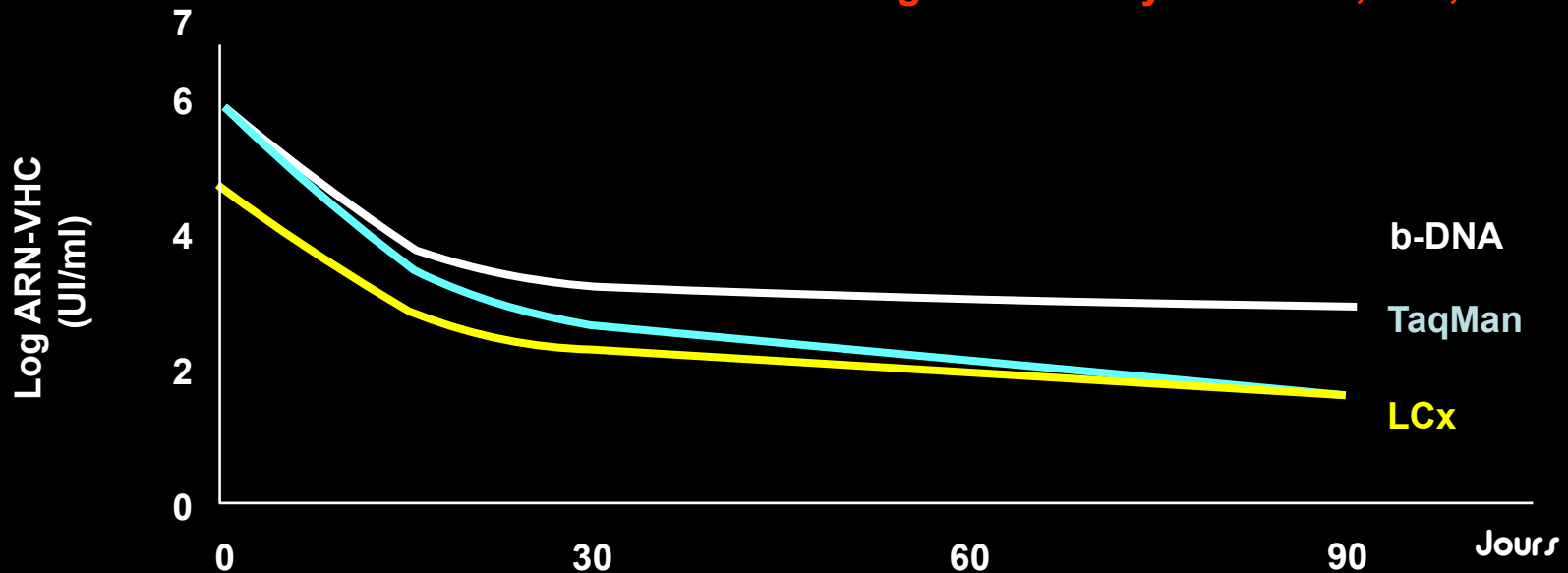
# Echelles de quantification linéaire des tests de charge virale (UI/ml)



# Quantification de la charge virale : Utiliser le même test pour un même patient !

Étude comparant 3 techniques de quantification virale (TaqMan, Roche ; Versant HCV RNA 3.0, Bayer ; LCx, Abbott) à J0, J15, M1, M3 chez 27 malades traités par bithérapie

Charge virale moyenne à J0, J15, M1 et M3



# Outils virologiques

---

1. Quels sont-ils ?

**2. Quand et comment s'en servir ?**

# **Outils virologiques**

## **Quand et comment s'en servir ?**

---

**1. Diagnostic**

**2. Management du traitement antiviral**

# Outils virologiques

## Quand et comment s'en servir ?

---

### 1. Diagnostic

### 2. Management du traitement antiviral

*Pas d'utilité pronostique quand à l'évolution naturelle de l'hépatite ni sur le risque de manifestation extra-hépatique*

# **Outils virologiques**

## **Quand et comment s'en servir ?**

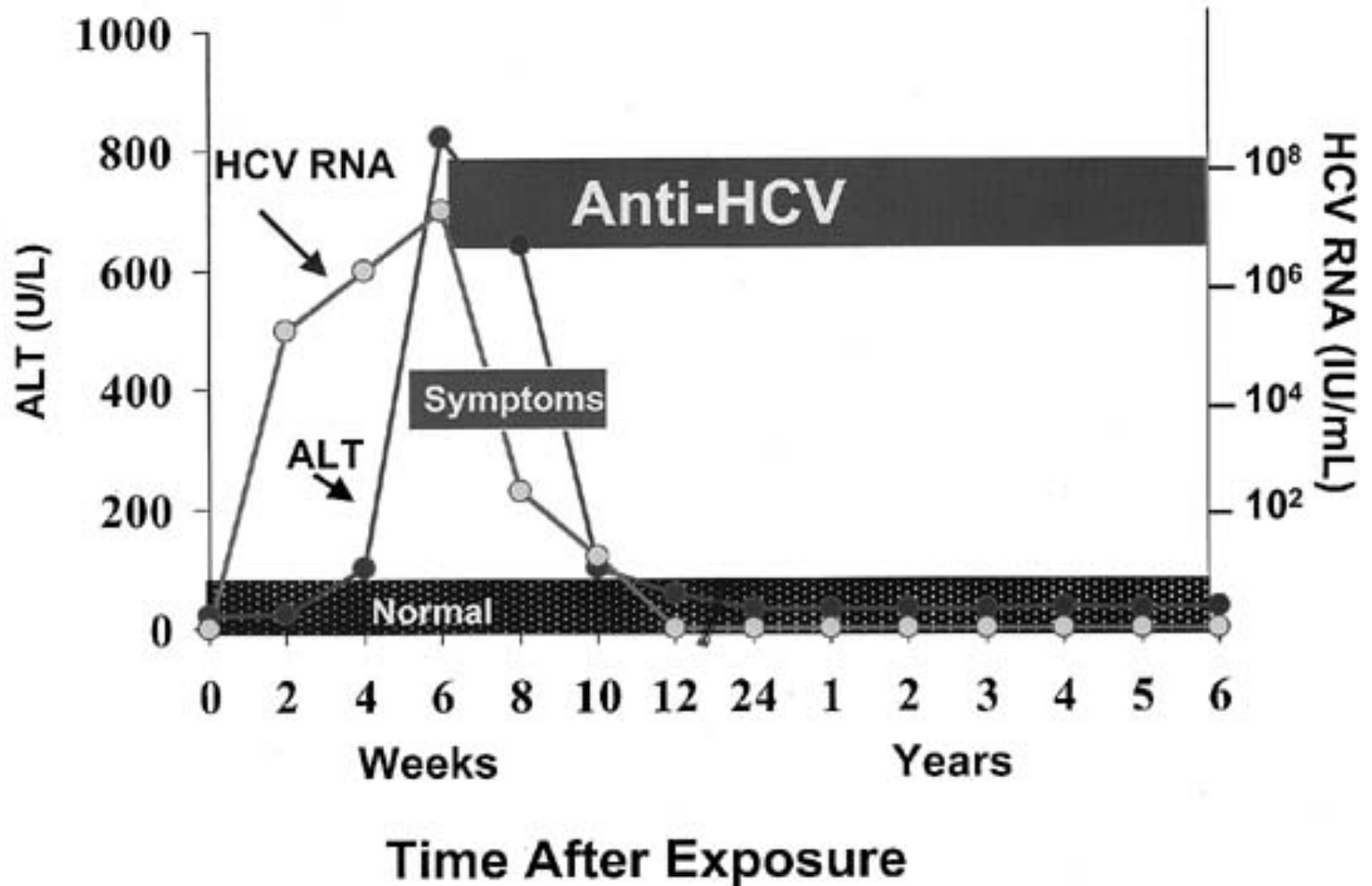
---

**1. Diagnostic**

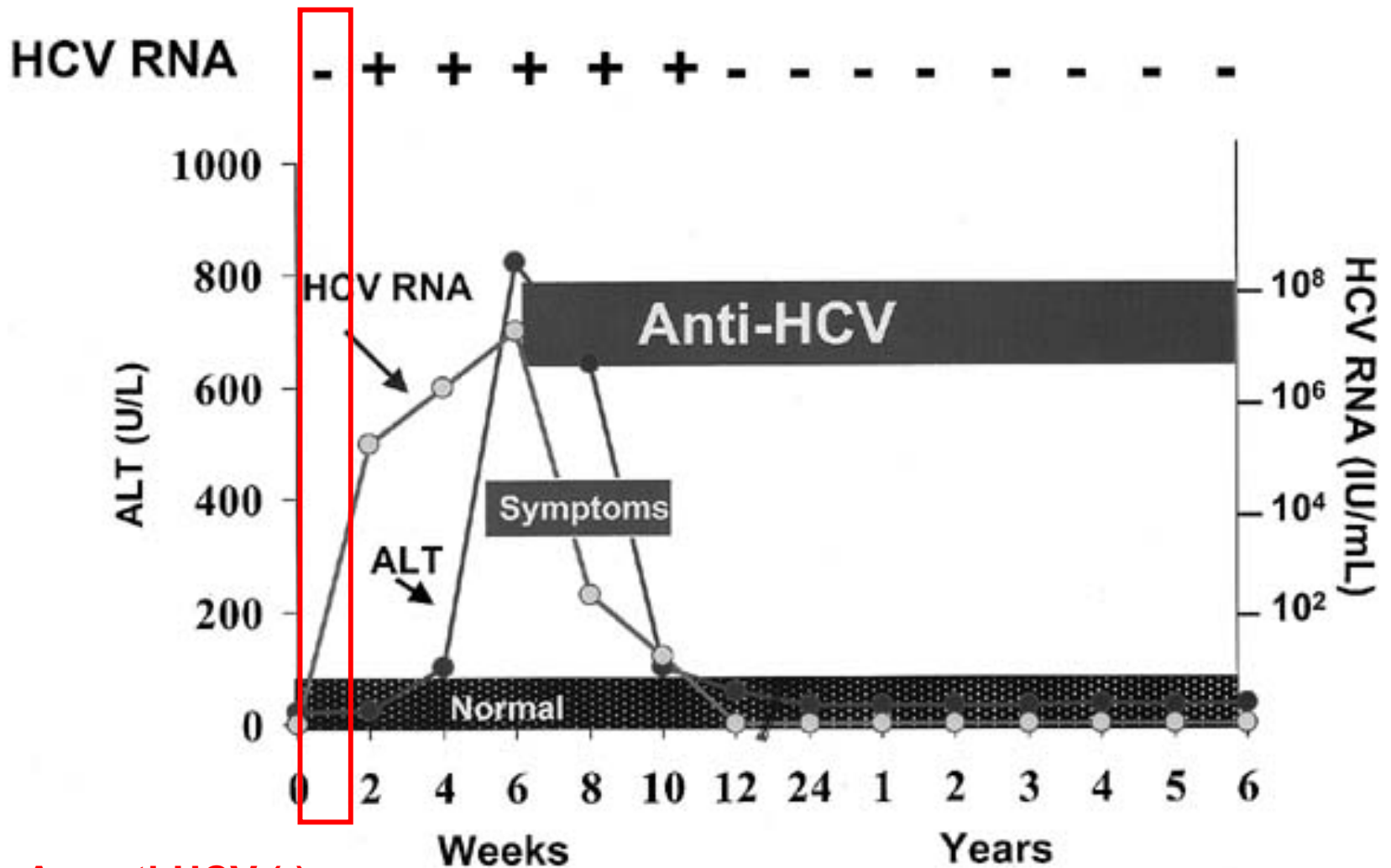
**2. Management du traitement antiviral**

# Hépatite aiguë

HCV RNA - + + + + + - - - - - - - - - -



# Hépatite aiguë

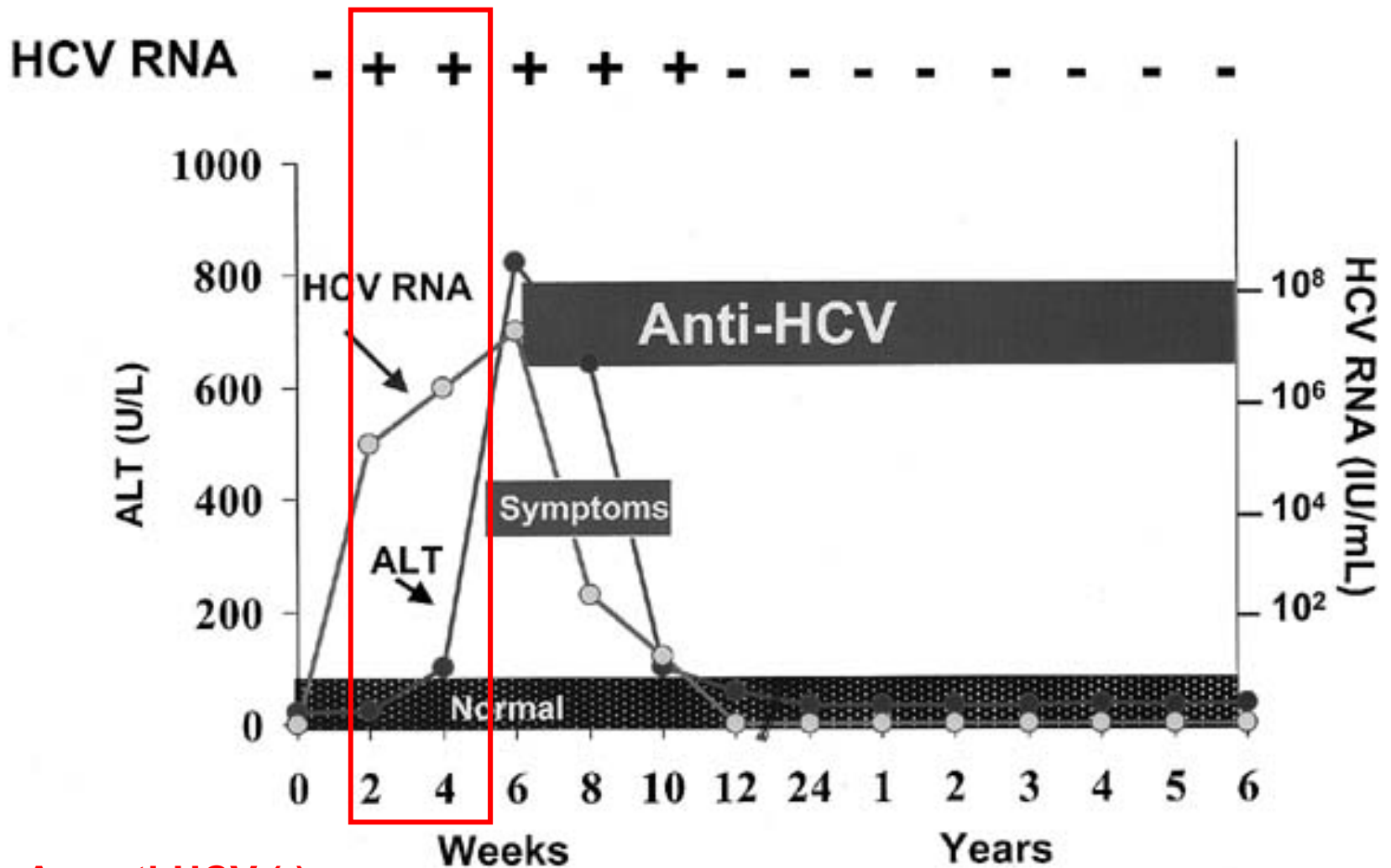


Ac anti-HCV (-)

ARN VHC (-)

Time After Exposure

# Hépatite aiguë

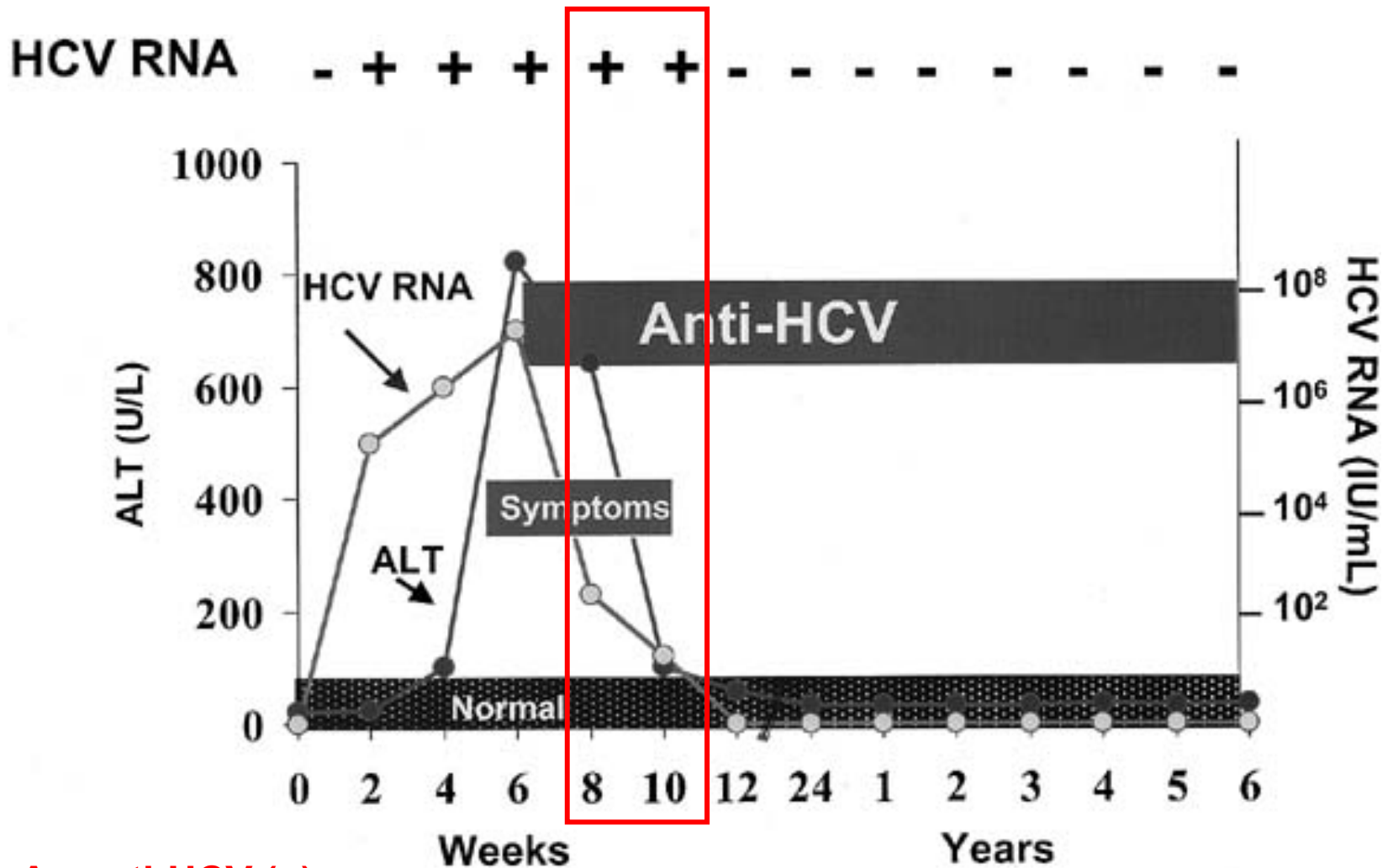


Ac anti-HCV (-)

ARN VHC (+)

Time After Exposure

# Hépatite aiguë

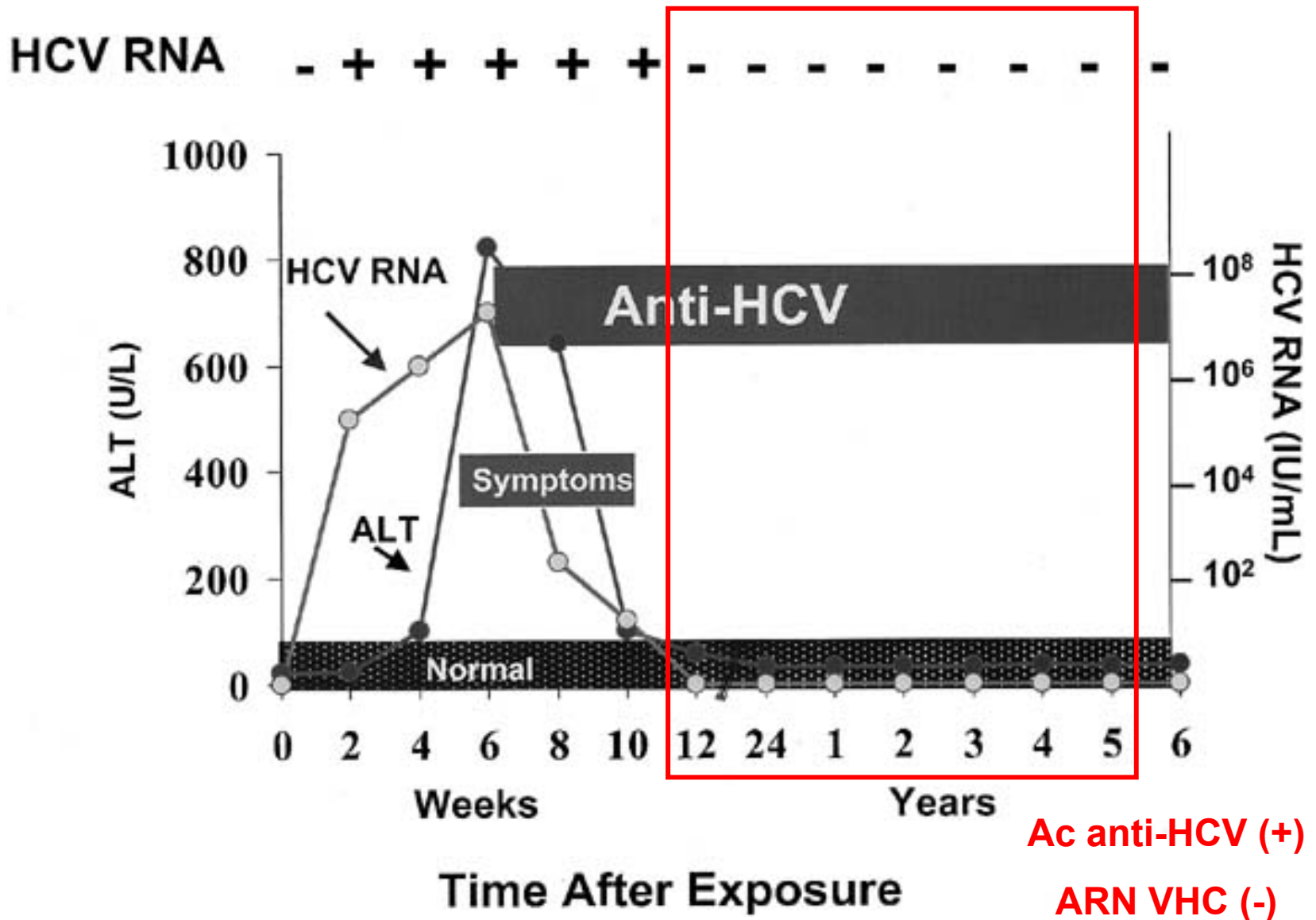


Ac anti-HCV (+)

ARN VHC (+)

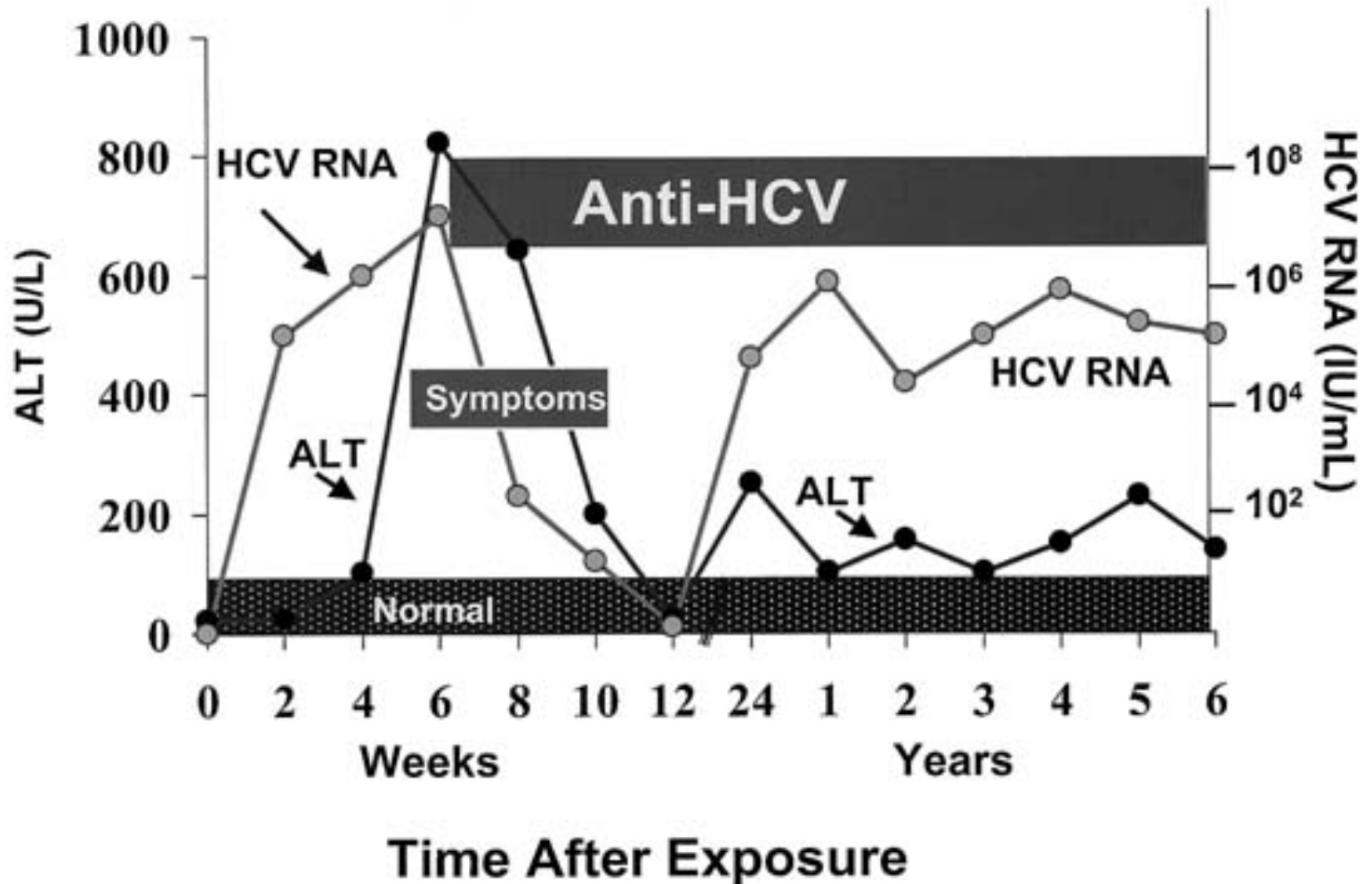
Time After Exposure

# Hépatite aiguë

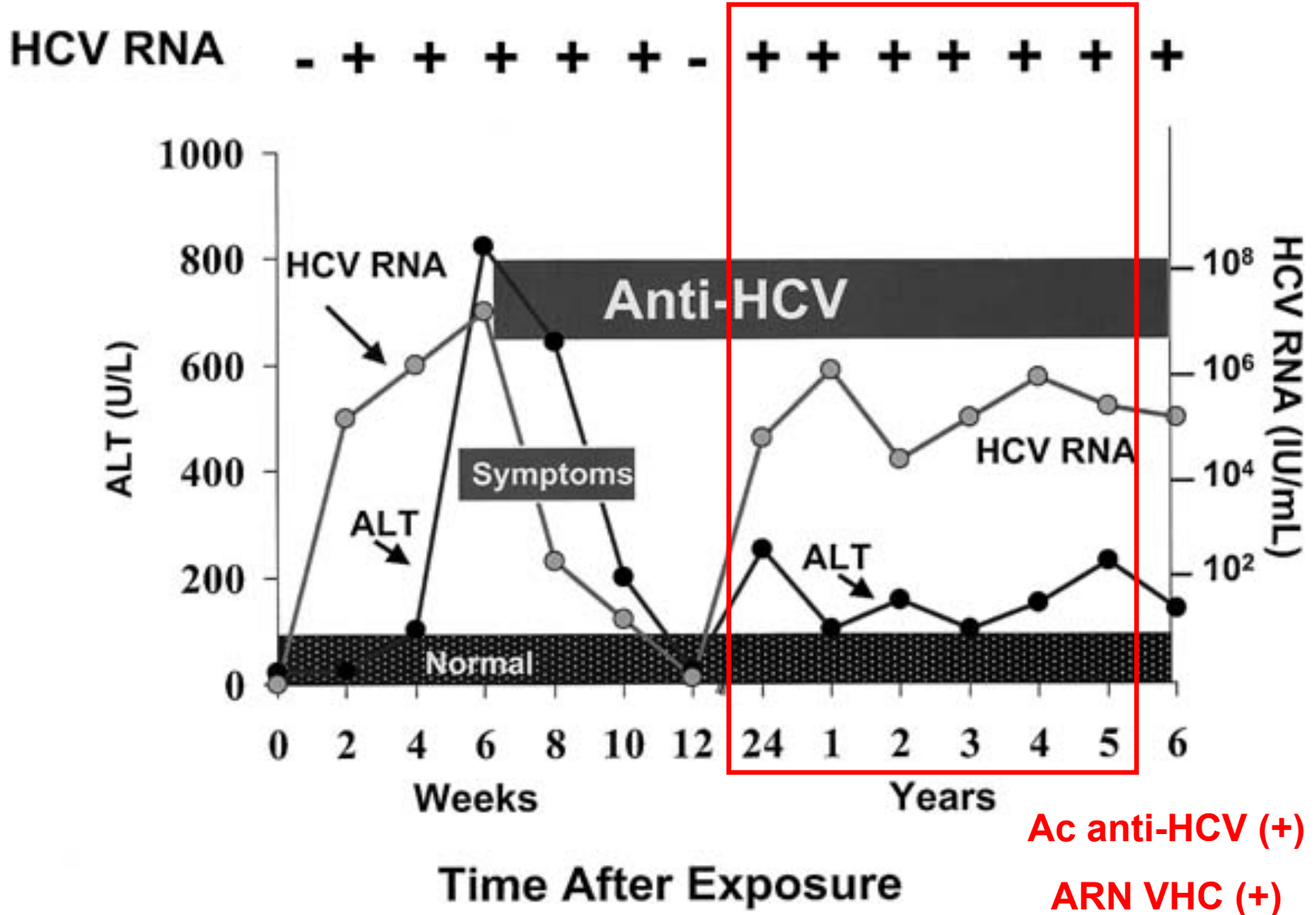


# Hépatite chronique

HCV RNA    -   +   +   +   +   +   -   +   +   +   +   +   +   +



# Hépatite chronique

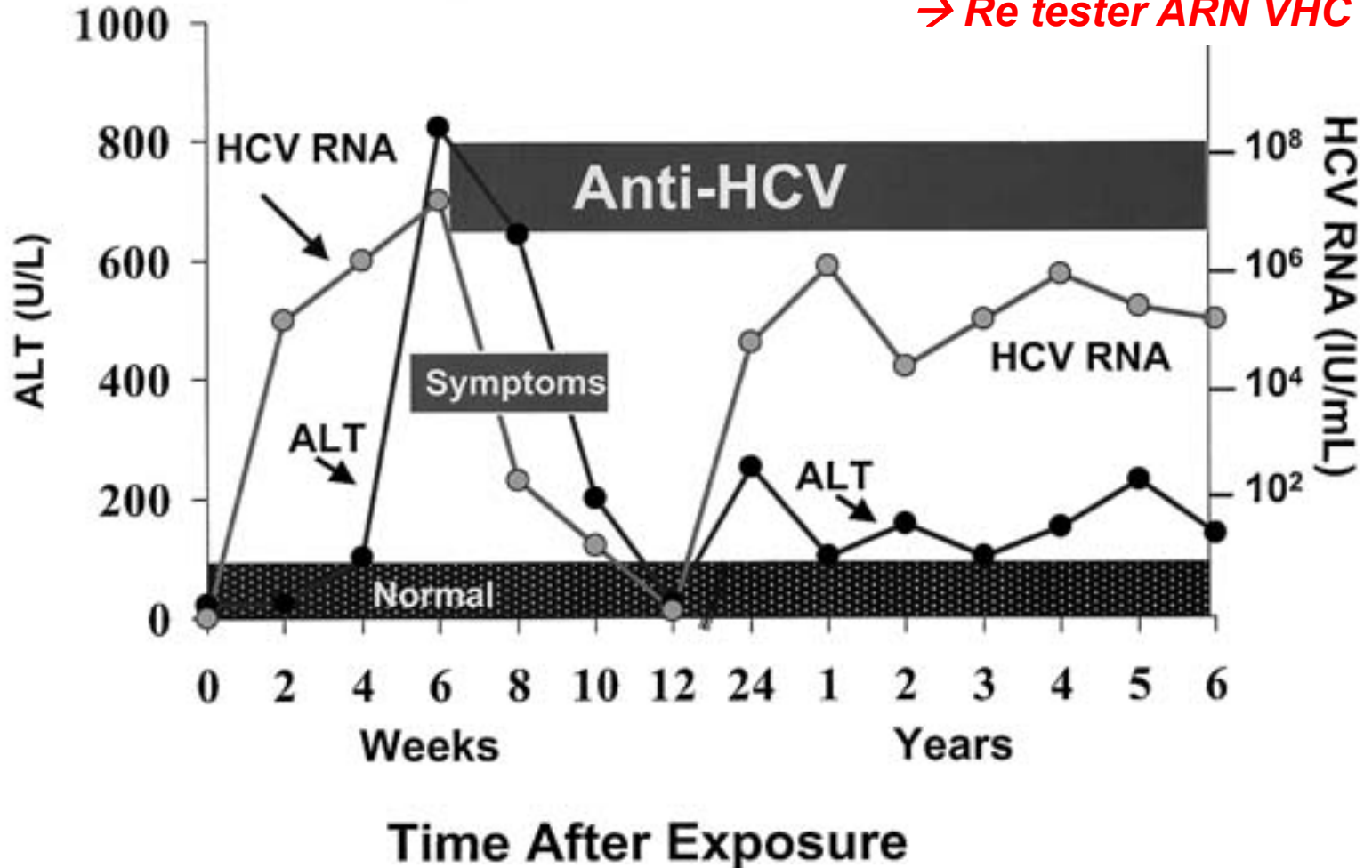


# Hépatite chronique

HCV RNA    - + + + + + **-** + +

Contrôle transitoire de la réplication virale \*

→ Re tester ARN VHC



\* Lavilette, et al. J Virol 2005

# Outils virologiques

## Quand s'en servir ?

---

1. Diagnostic

**2. Management du traitement antiviral**

# Outils virologiques et Tt anti-viral

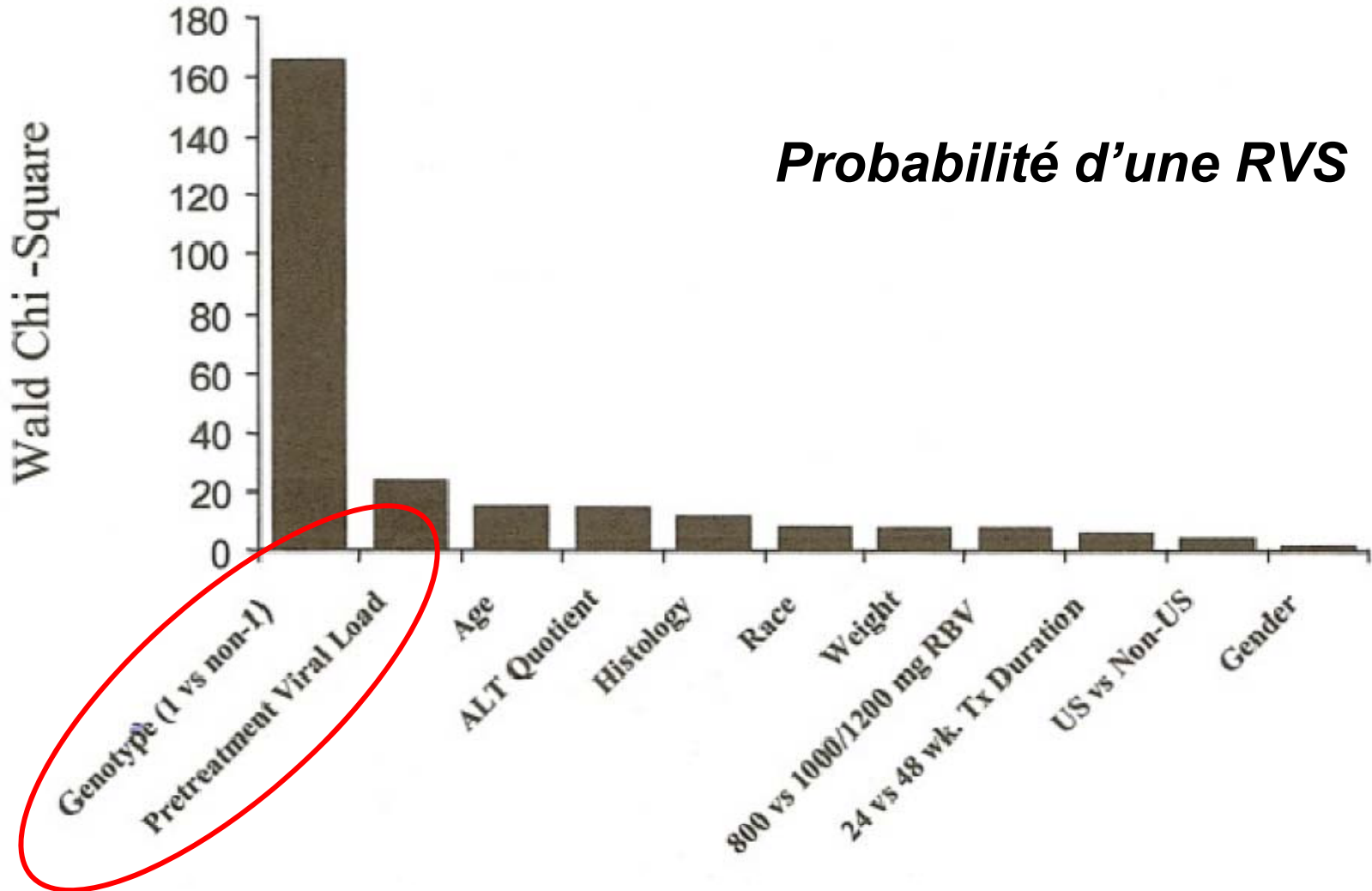
---

## ➤ Indication thérapeutique

***Dépend d'un ensemble de facteurs :***

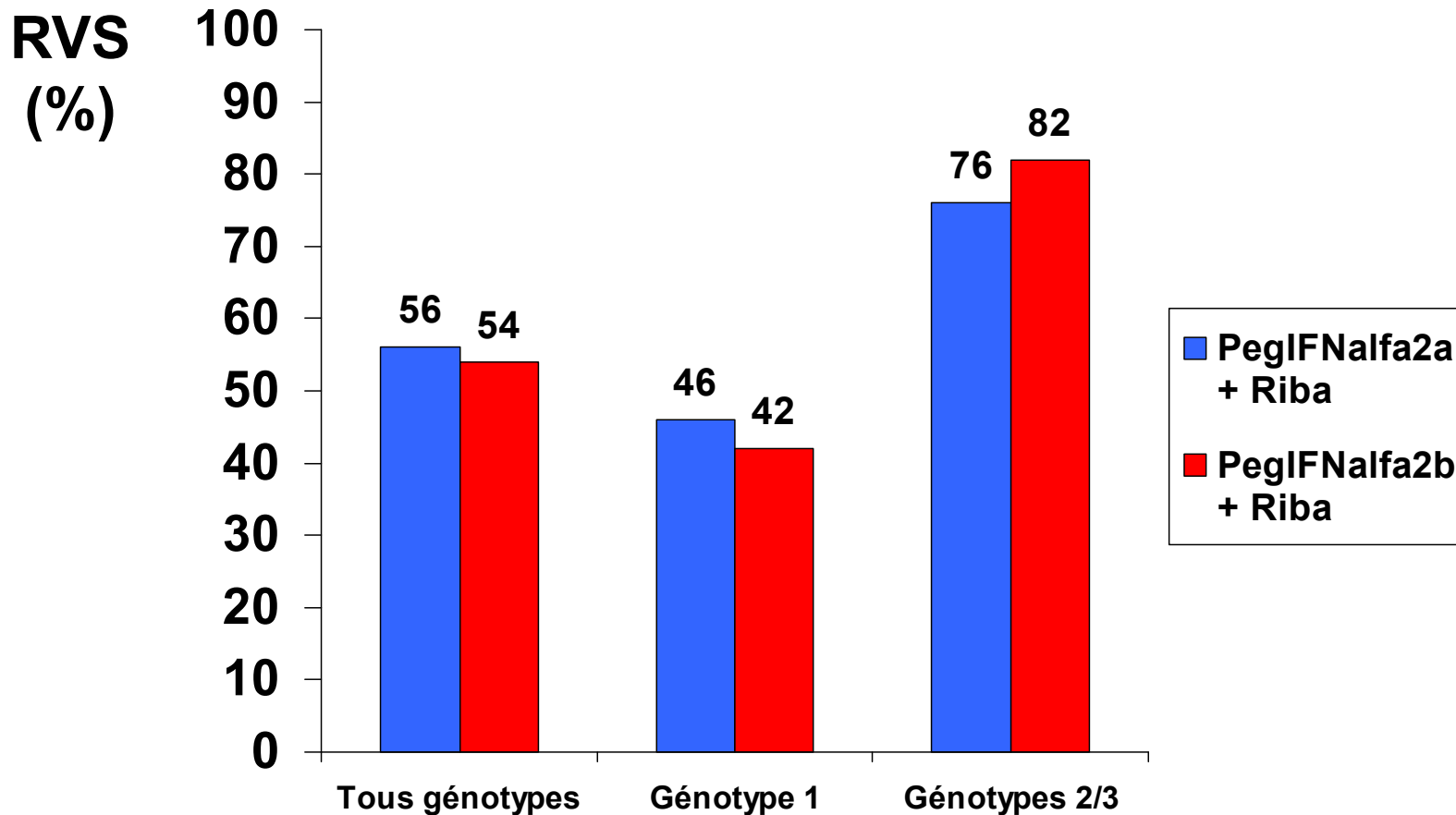
- Degré de fibrose
- Génotype
- Charge virale
- Âge
- Motivation du malade
- Présence d'autres facteurs de co-morbidité

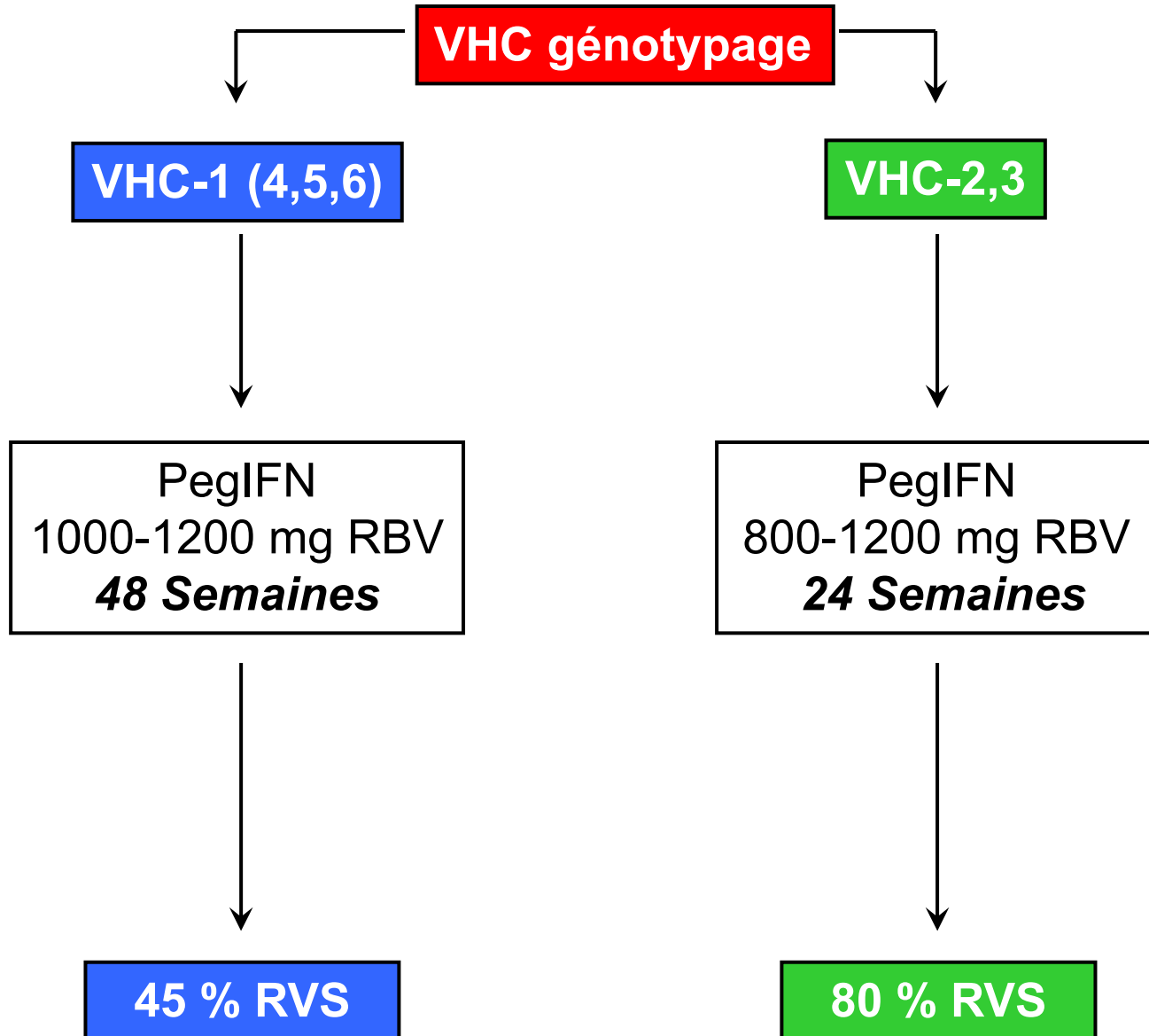
# Traitement anti-viral



# Traitement anti-viral

## Importance du génotype





# Outils virologiques et Tt anti-viral

---

## ➤ Indication thérapeutique

*Dépend du génotype et de la charge virale*

## ➤ Suivi en cours de traitement

## ➤ Définition de la RVS

**= ARN VHC < 50 U/ml 6 mois après l'arrêt du traitement**

# Outils virologiques et Tt anti-viral

---

## ➤ Indication thérapeutique

*Dépend du génotype et de la charge virale*

## ➤ Suivi en cours de traitement

## ➤ Définition de la RVS

*= ARN VHC < 50 U/ml 6 mois après l'arrêt du traitement*

# Outils virologiques et Tt anti-viral

---

➤ **Génotype 1**

➤ **Génotypes 2/3**

➤ **Génotype 4**

➤ **Rechuteurs et non répondeurs**

# Outils virologiques et Tt anti-viral

---

➤ **Génotype 1**

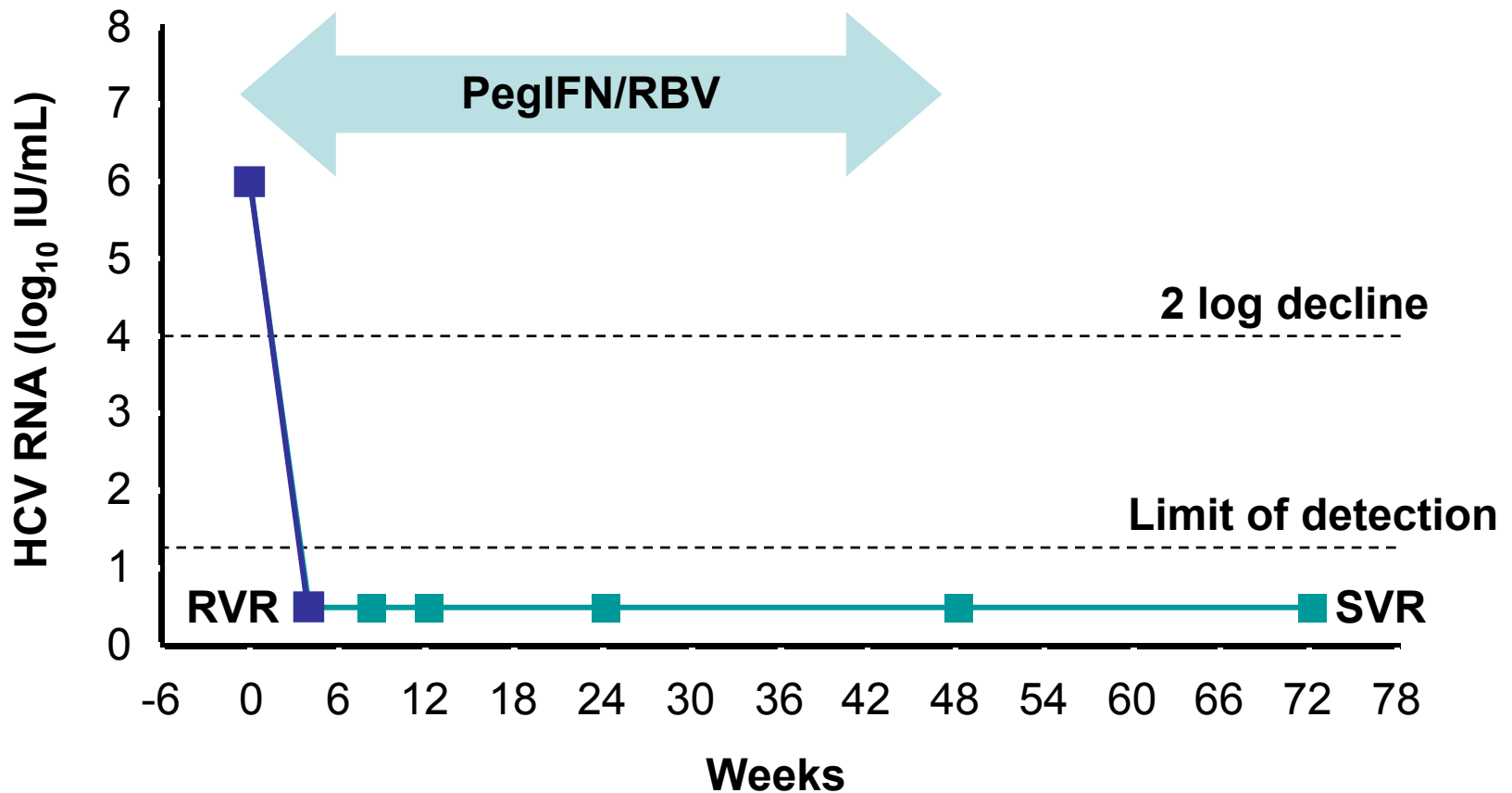
➤ Génotypes 2/3

➤ Génotype 4

➤ Rechuteurs et non répondeurs

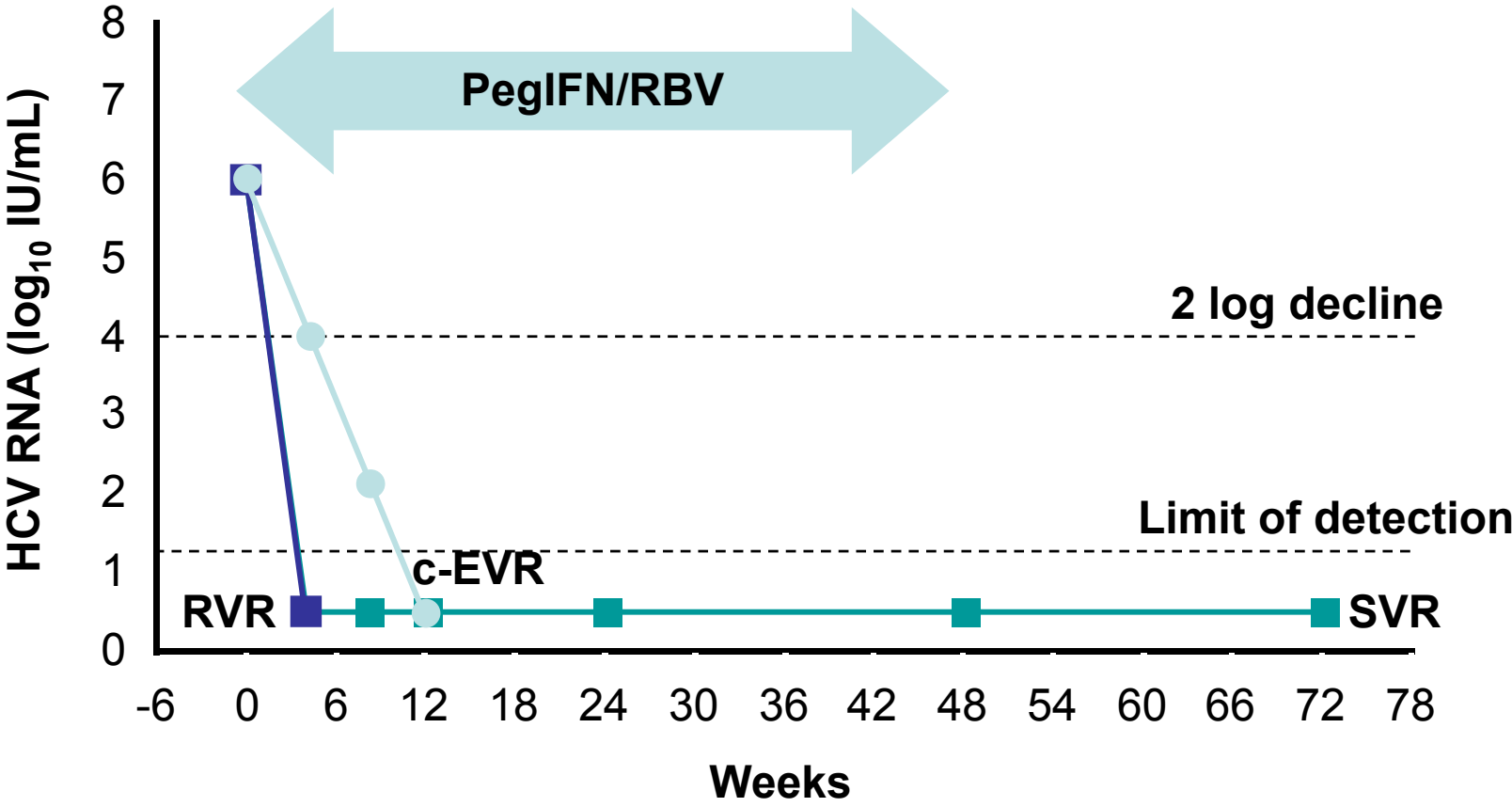
# Rapid Virologic Response (RVR)

*HCV RNA Undetectable at Week 4*



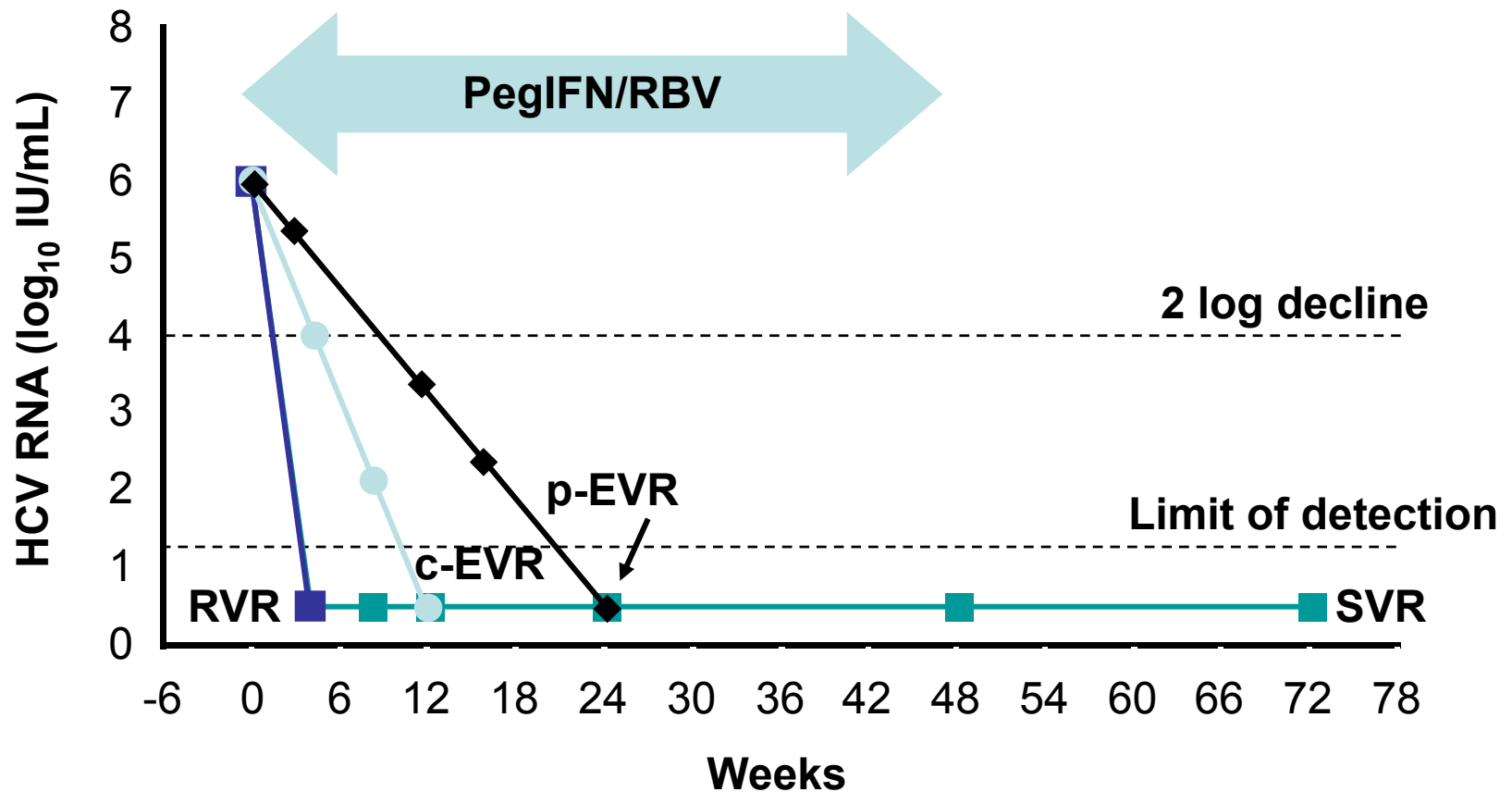
# Complete Early Virologic Response

*HCV RNA Undetectable at Week 12*

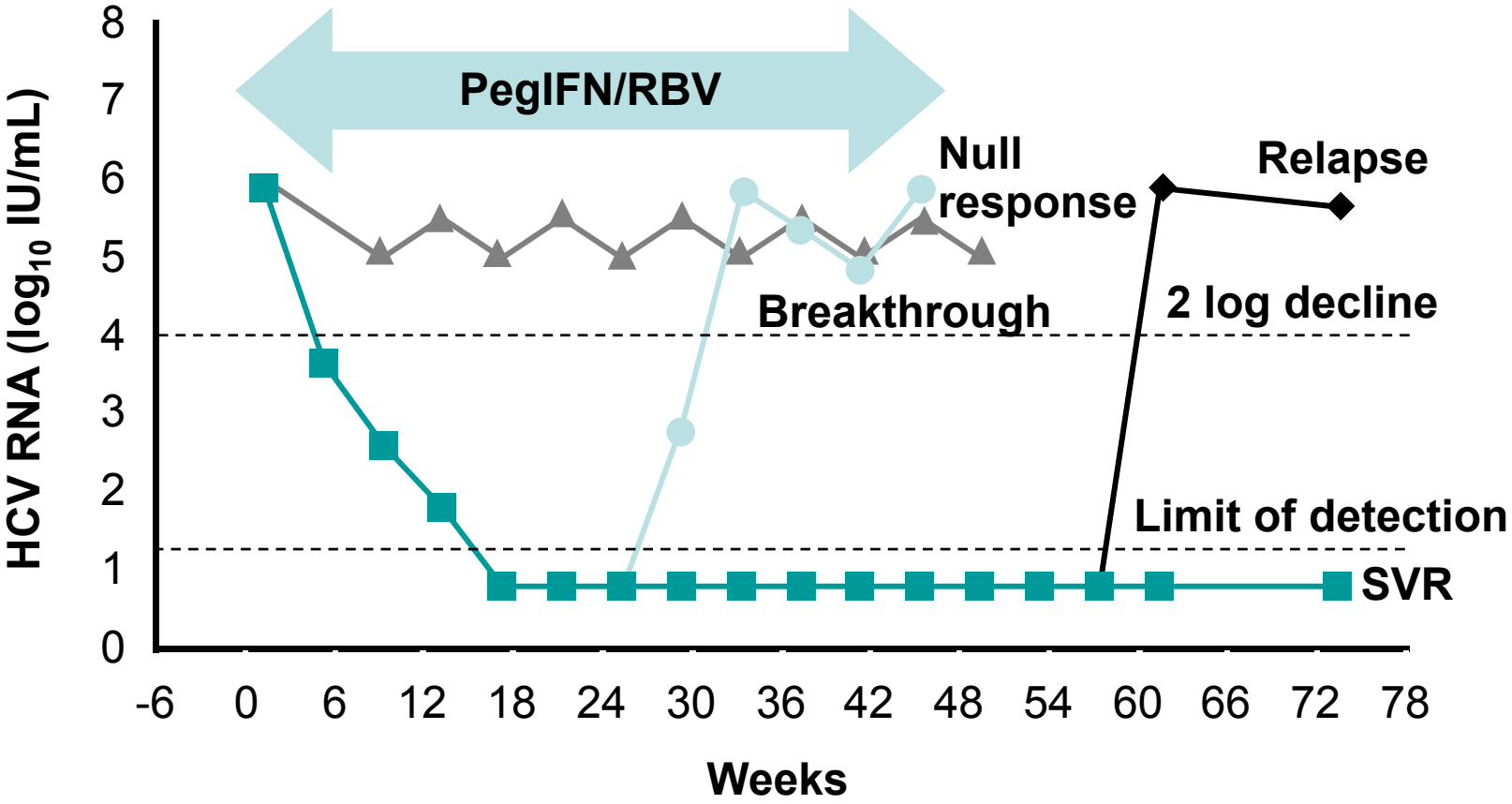


# Partial Early Virologic Response

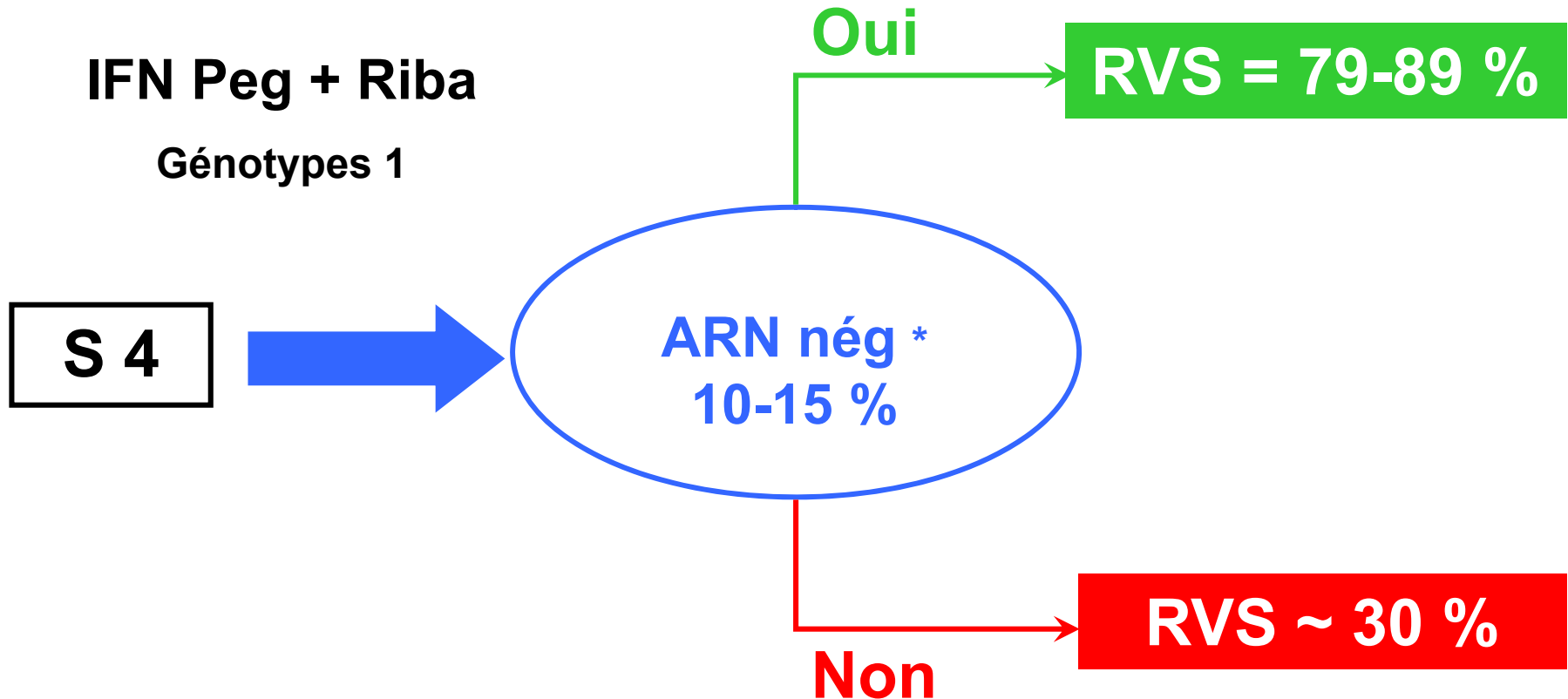
↓ *HCV RNA*  $\geq 2$  logs at week 12 and Undetectable at W24



# Null Response, Breakthrough and Relapse

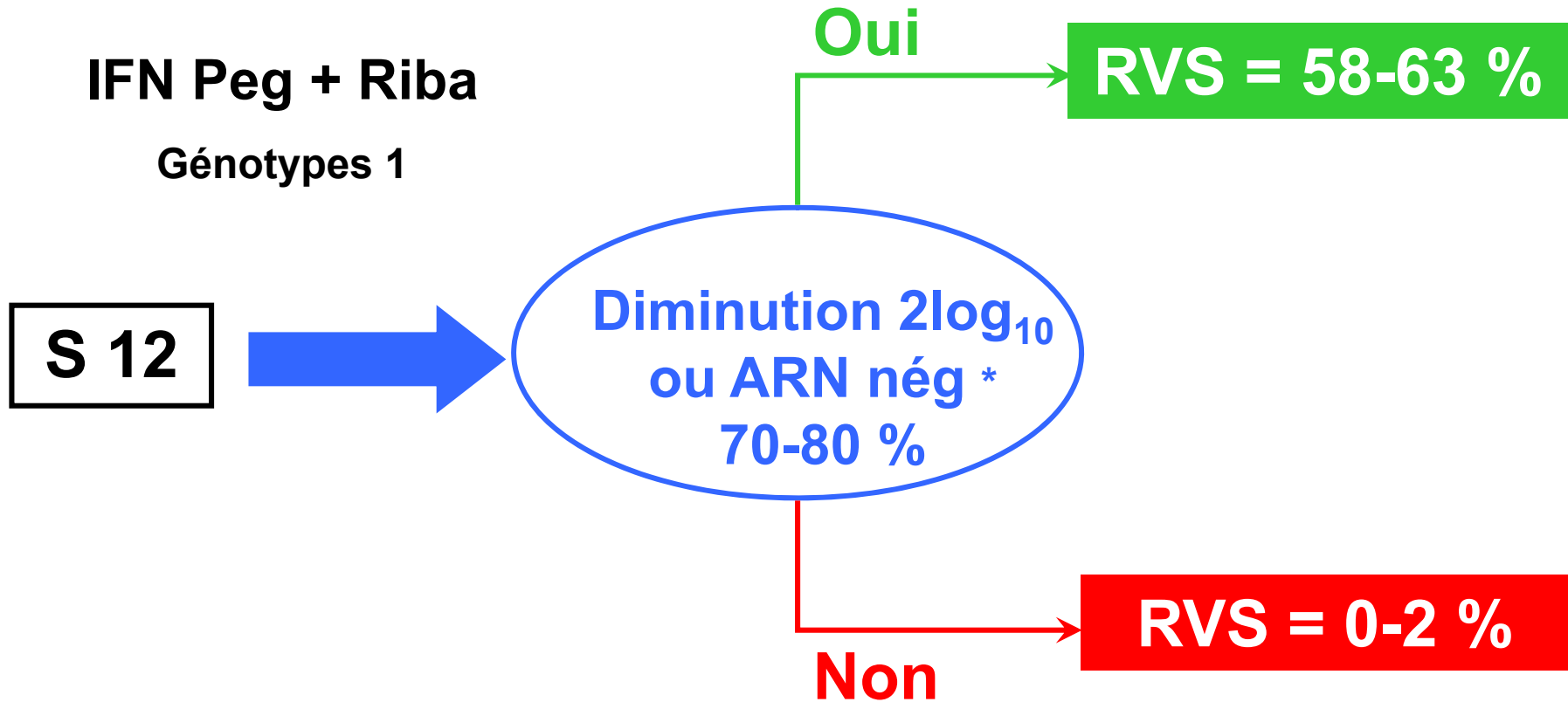


# Réponse virologique rapide



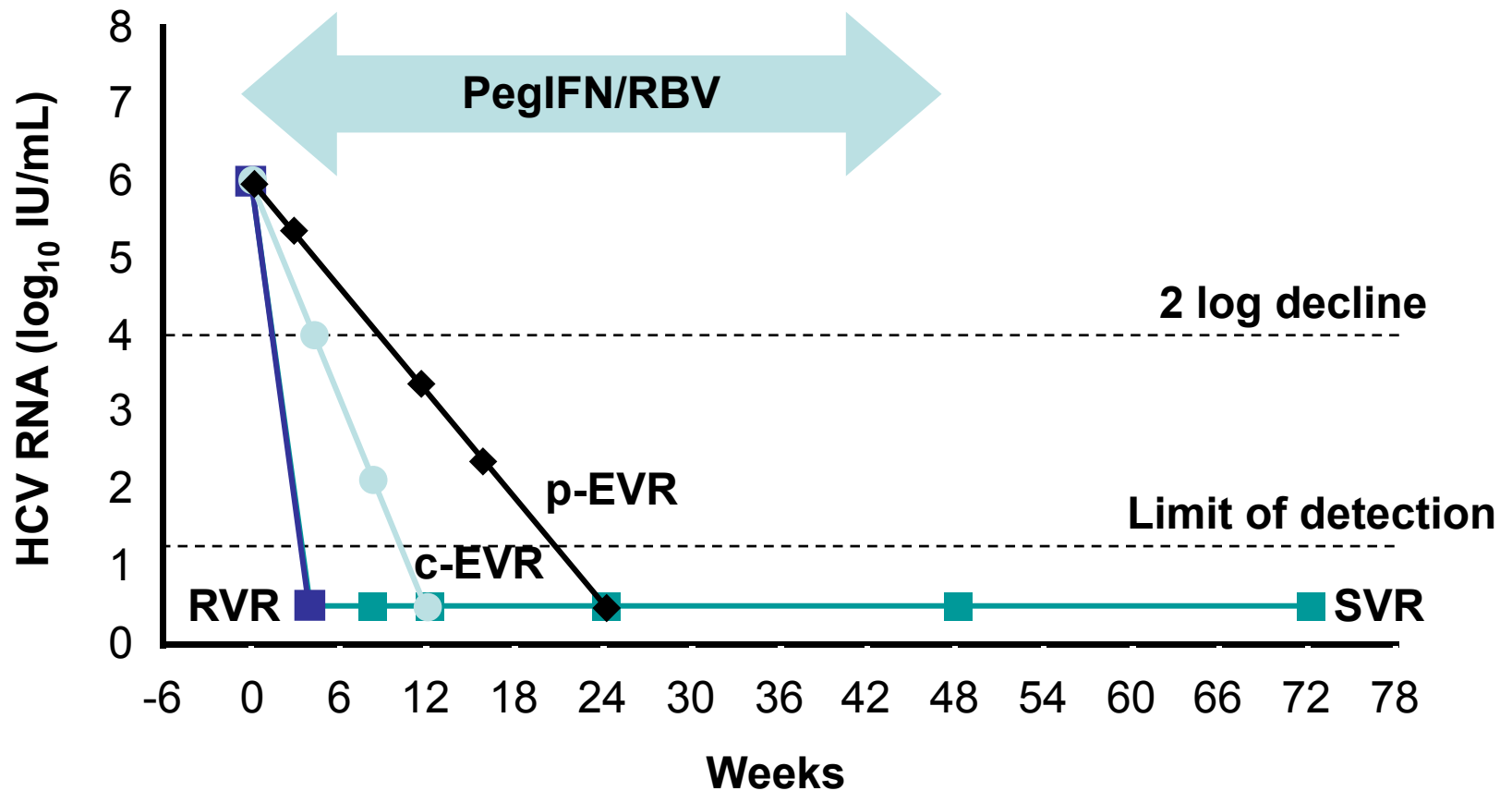
\* Seuil = 29-50 UI/ml

# Réponse virologique précoce

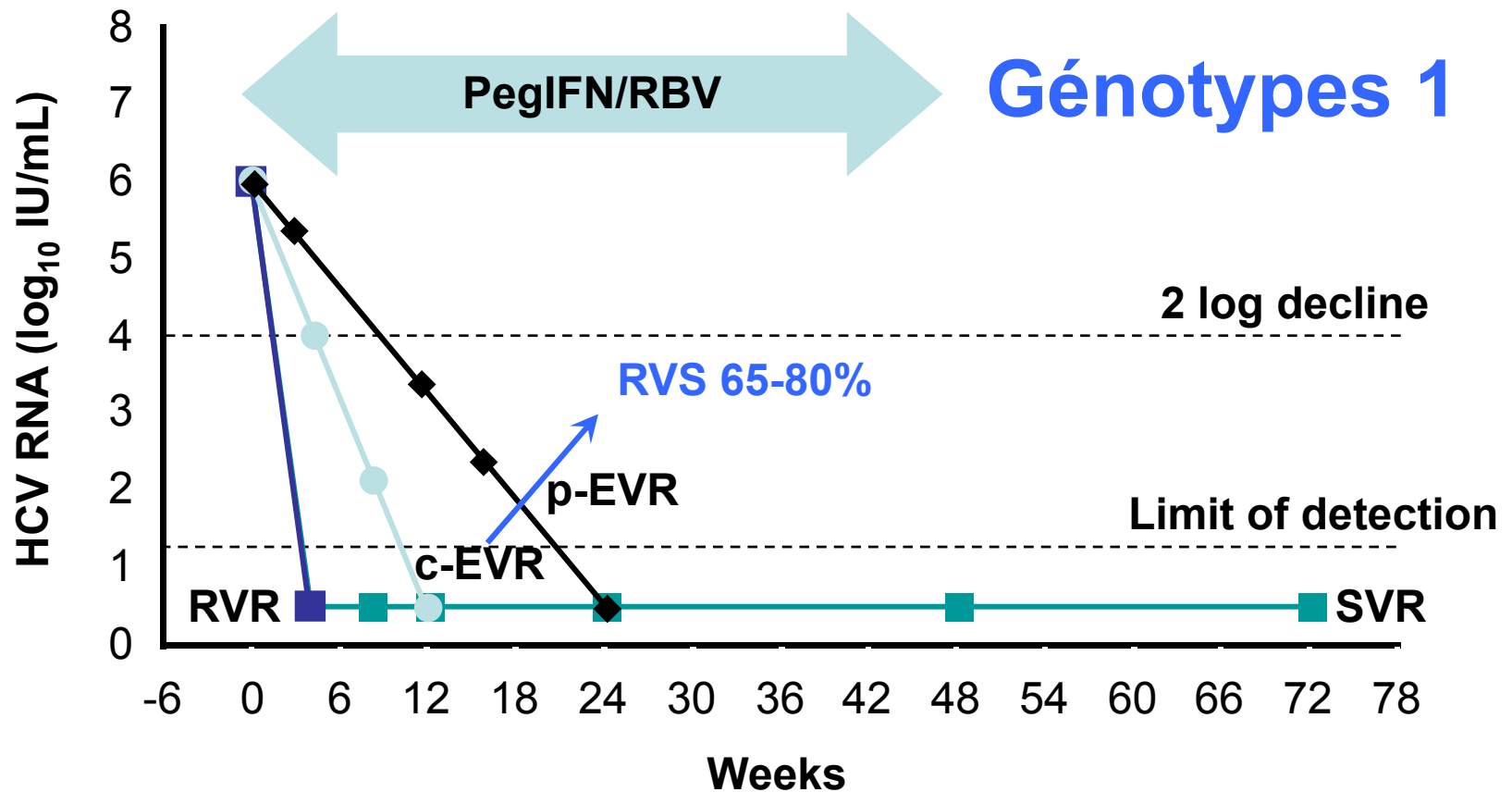


\* Seuil = 100-600 UI/ml

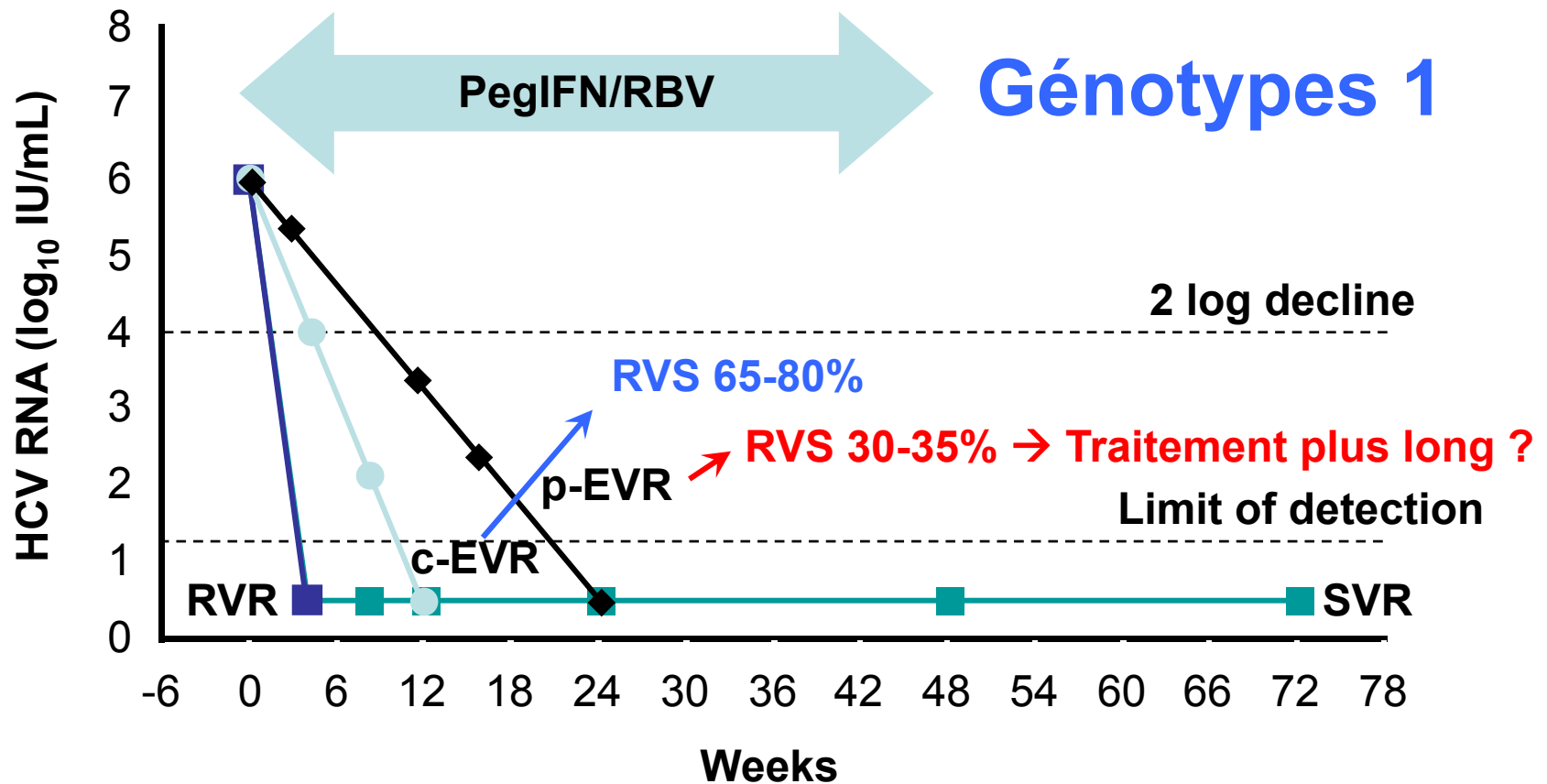
# Adaptation de la durée de traitement



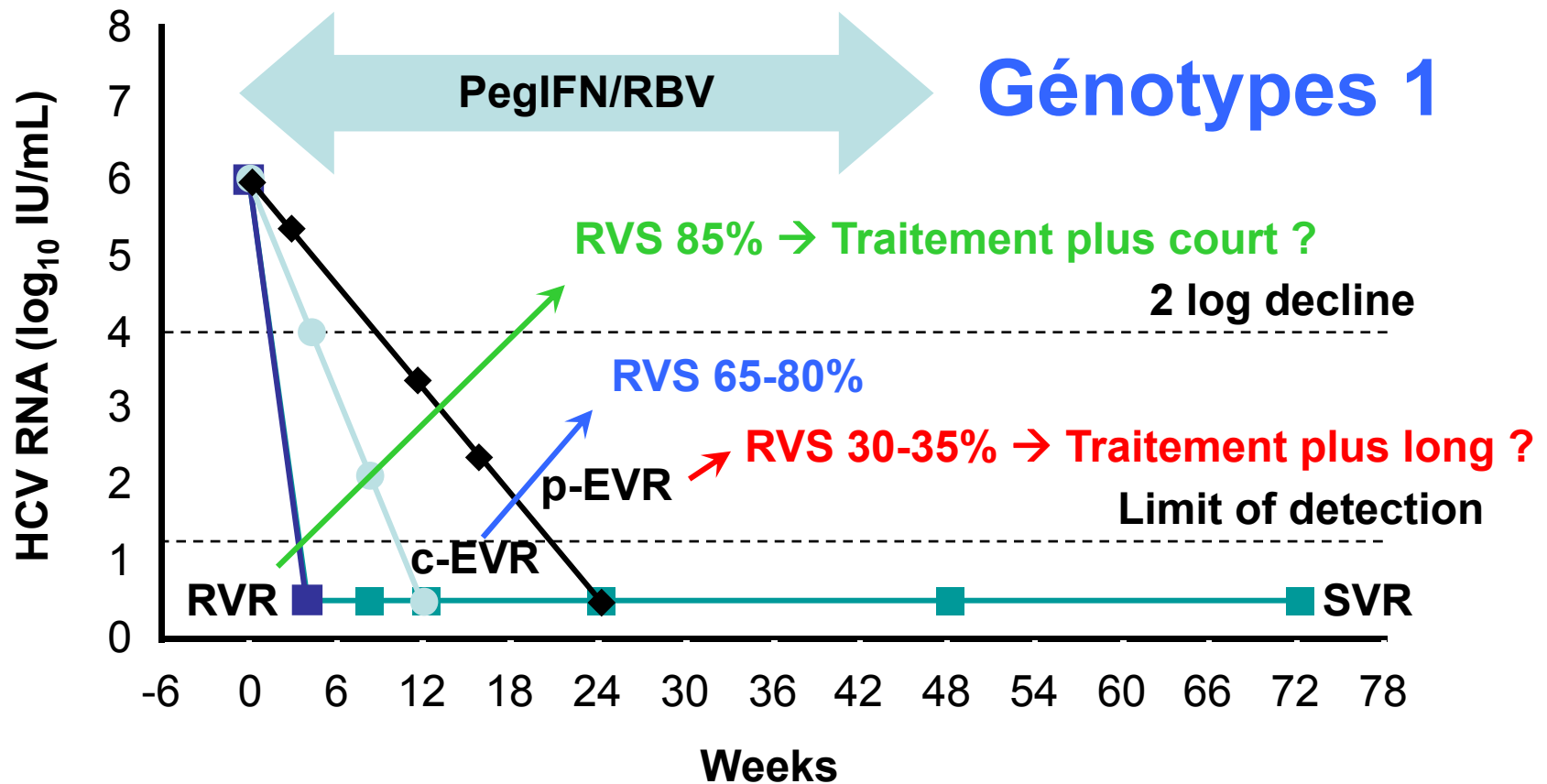
# Adaptation de la durée de traitement



# Adaptation de la durée de traitement

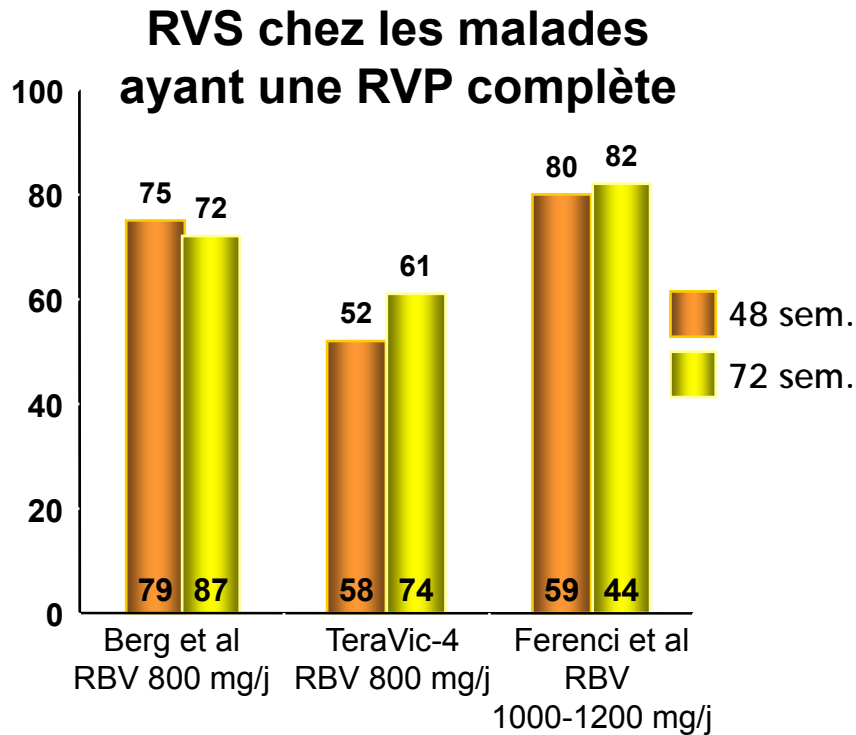


# Adaptation de la durée de traitement

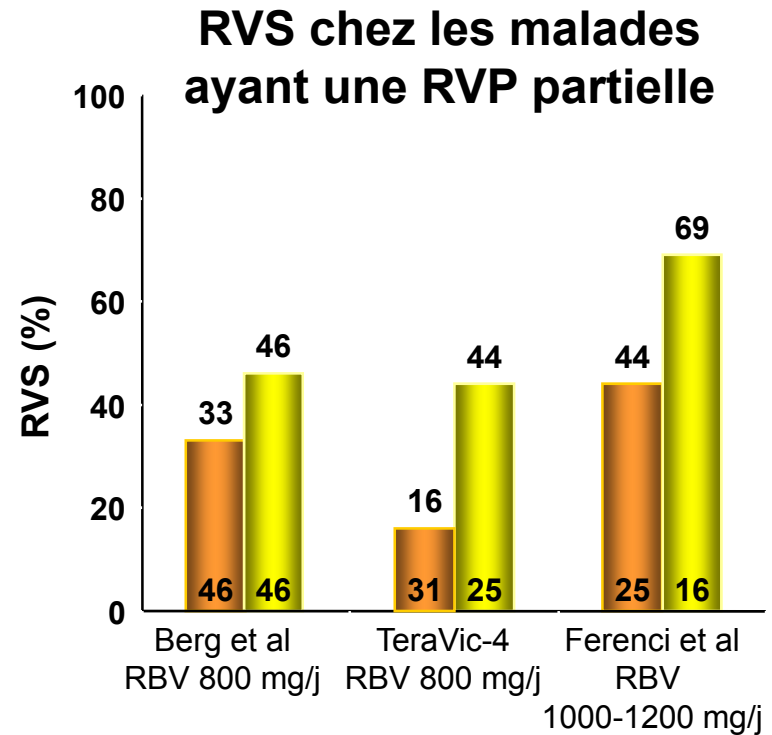


# Génotype 1 - Faut-il traiter plus longtemps les répondeurs virologiques précoces partiels ?

*Patients naïfs génotype 1 inclus dans 3 études randomisées, multicentriques comparant 48 versus 72 semaines de traitement par PegINF  $\alpha$ -2a + ribavirine*

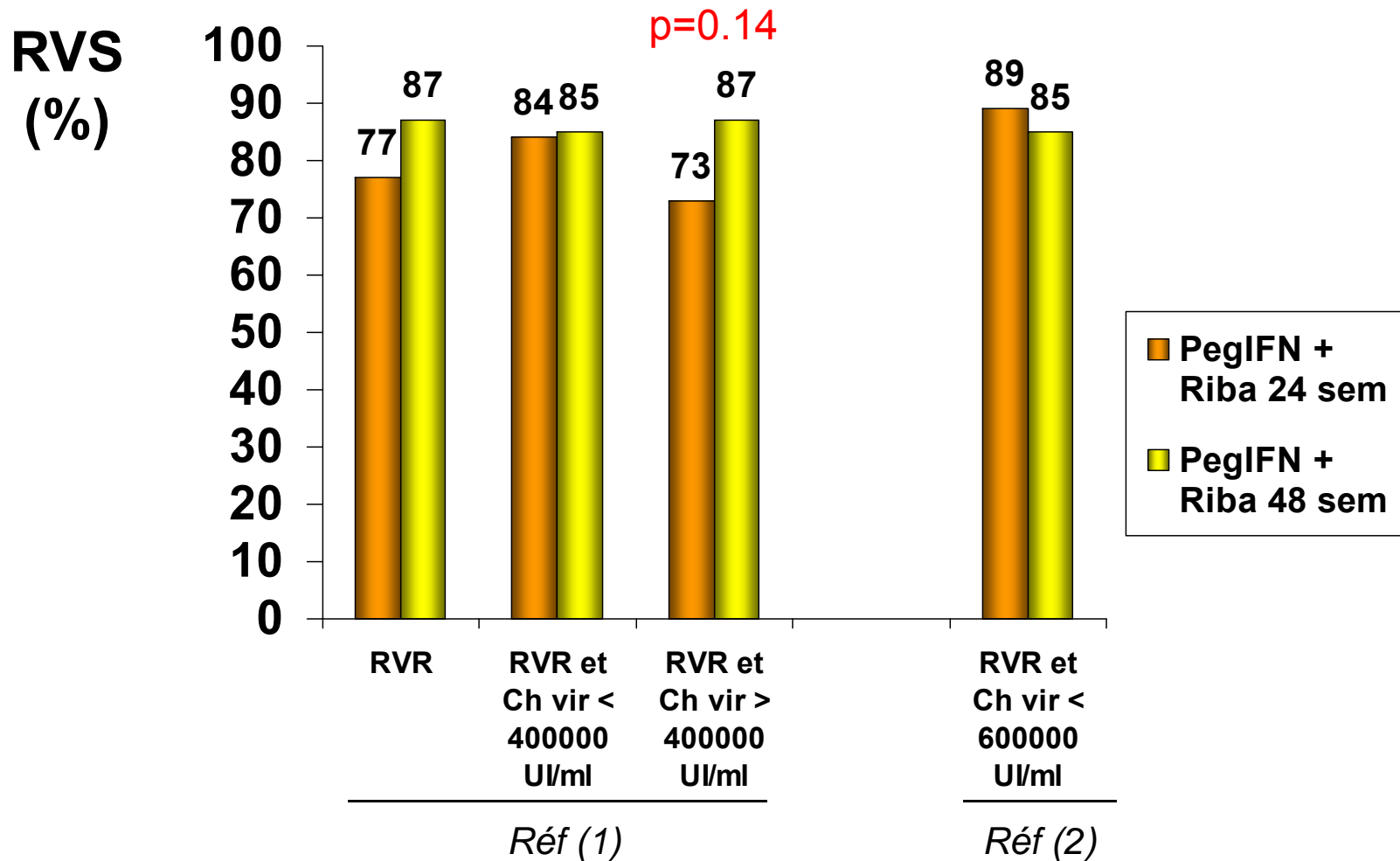


**RVP complète : ARN VHC < 50 UI/ml S12**



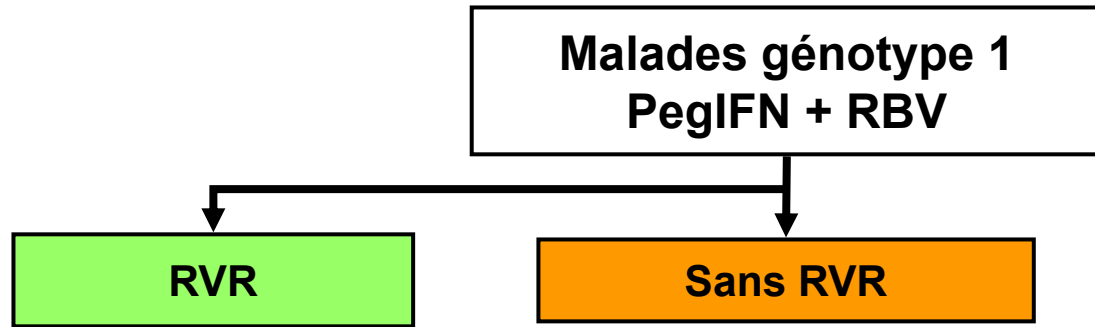
**RVP partielle : ARN  $\nabla$  > 2 log UI et ARN VHC > 50 UI/ml S12**

# Génotype 1 - Faut-il traiter moins longtemps les répondeurs virologiques rapides ?



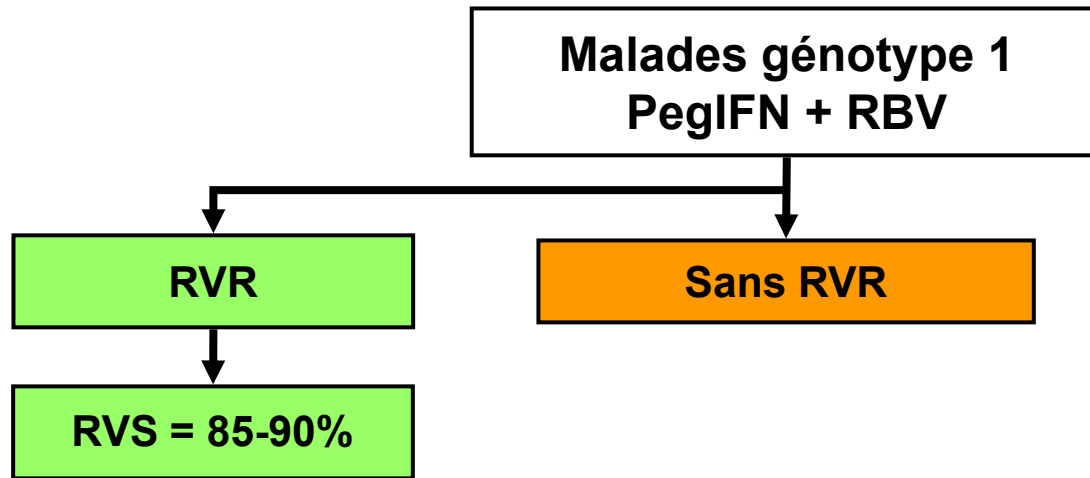
RVR = ARN VHC < 29-50 UI/ml

(1) Mangia, et al. Hepatology 2008, (2) Zeuzem, et al. J Hepatol 2006



*Baseline*

*Semaine 4*

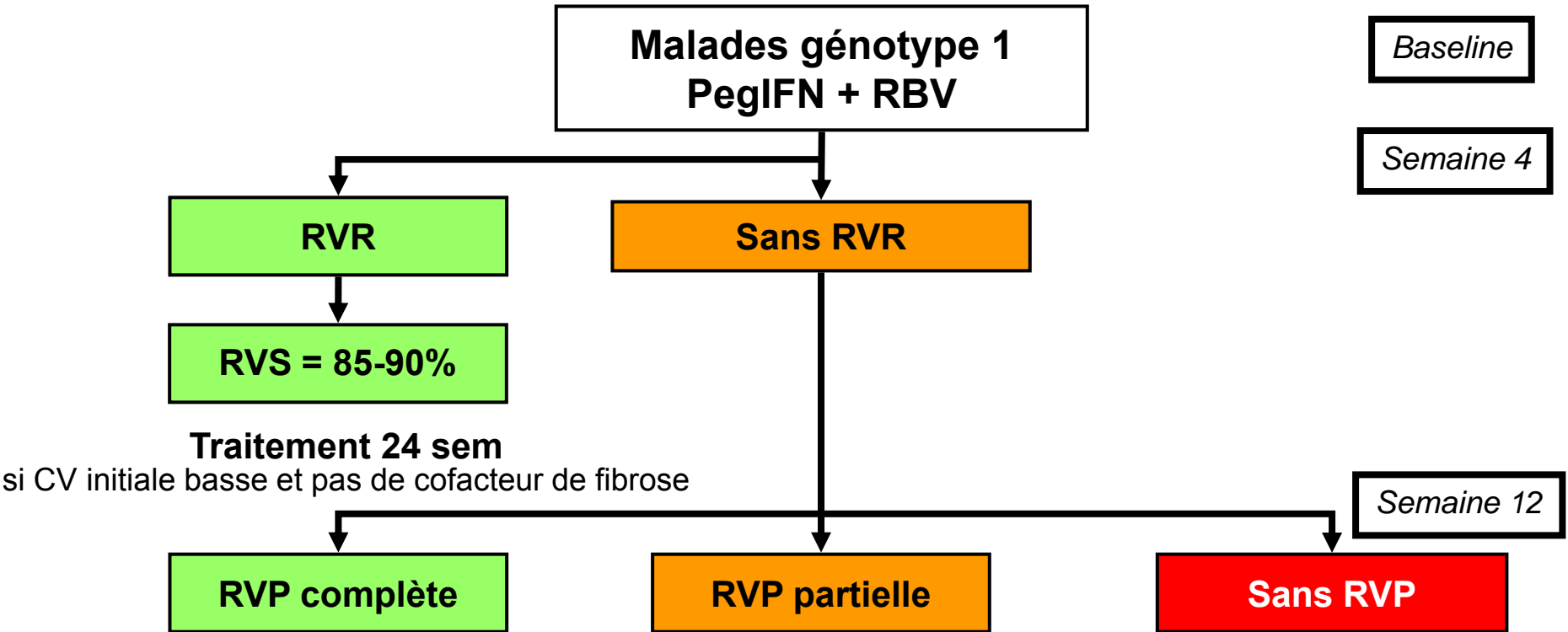


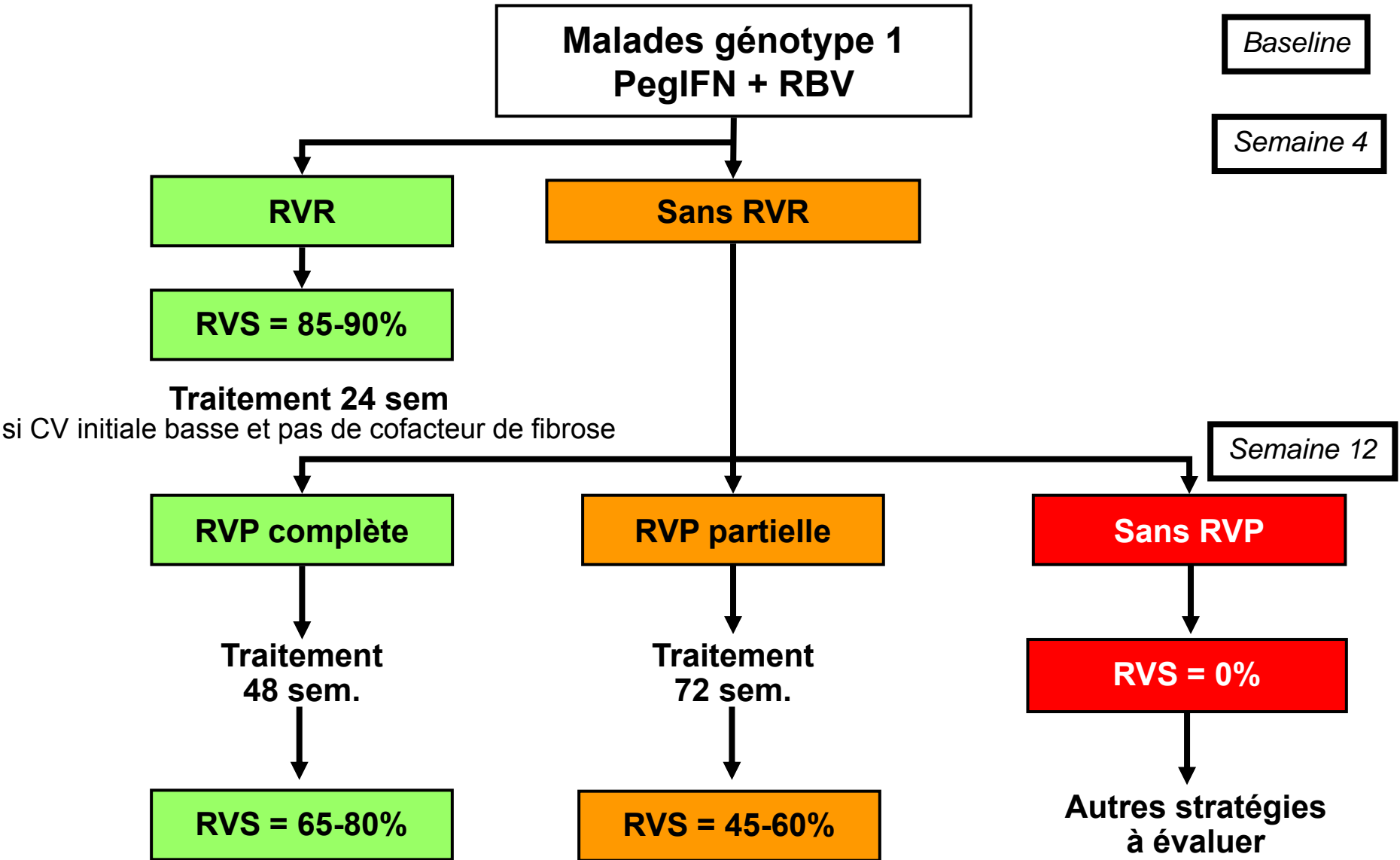
*Baseline*

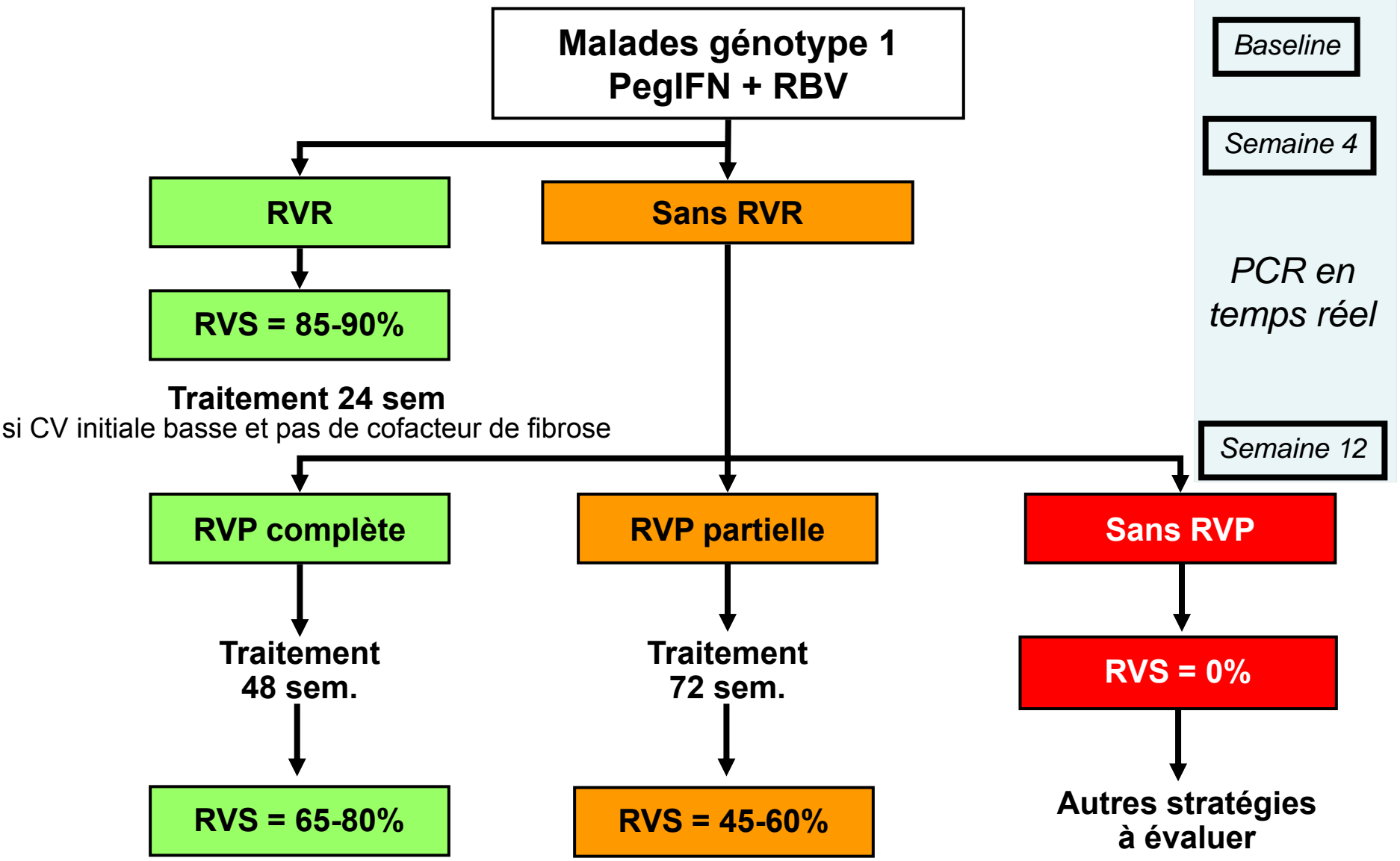
*Semaine 4*

**Traitement 24 sem**

si CV initiale basse et pas de cofacteur de fibrose







# Outils virologiques et Tt anti-viral

---

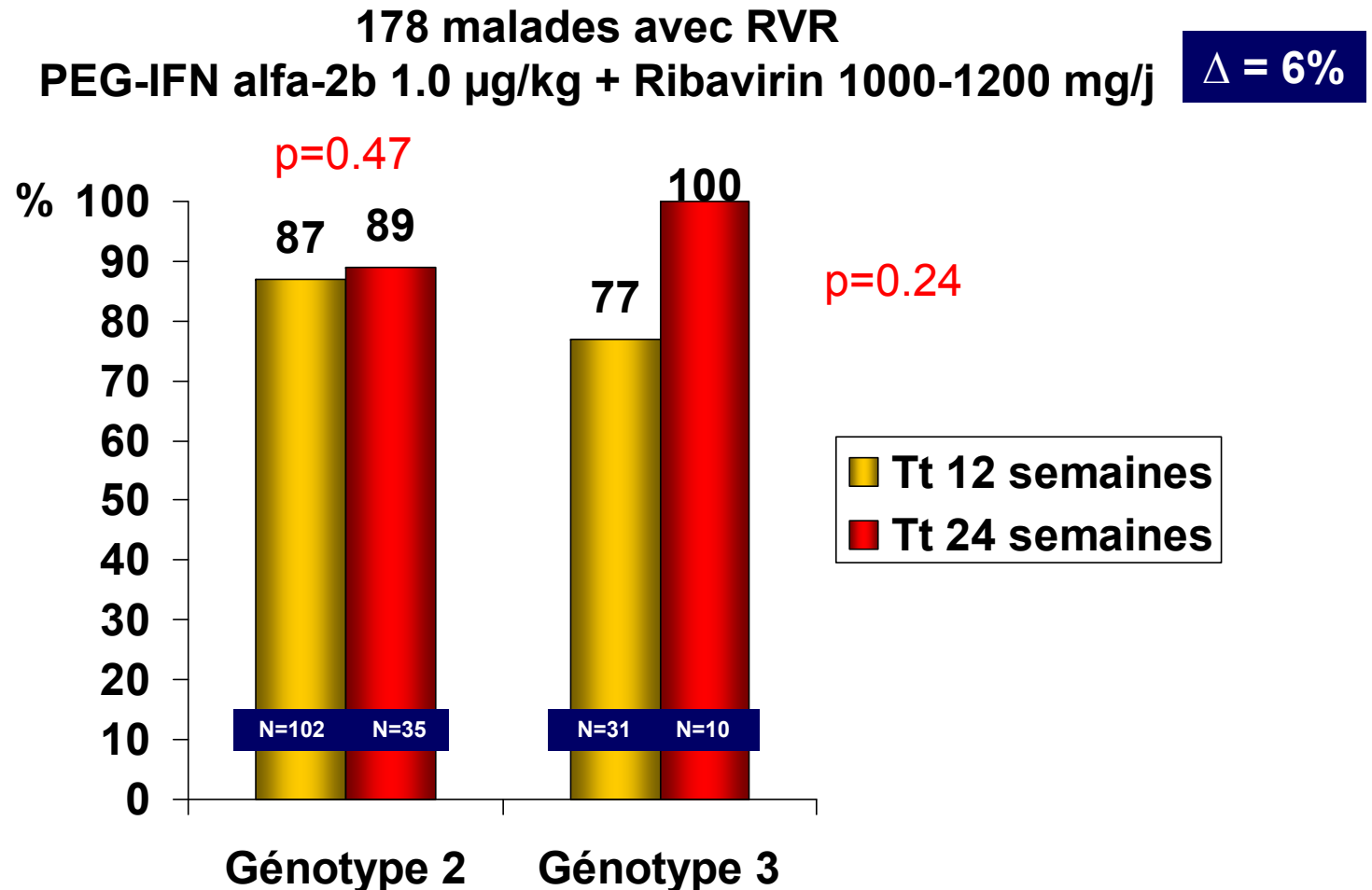
➤ **Génotype 1**

➤ **Génotypes 2/3**

➤ **Génotype 4**

➤ **Rechuteurs et non répondeurs**

# Génotype 2/3 - Faut-il traiter moins longtemps les répondeurs virologiques rapides ?

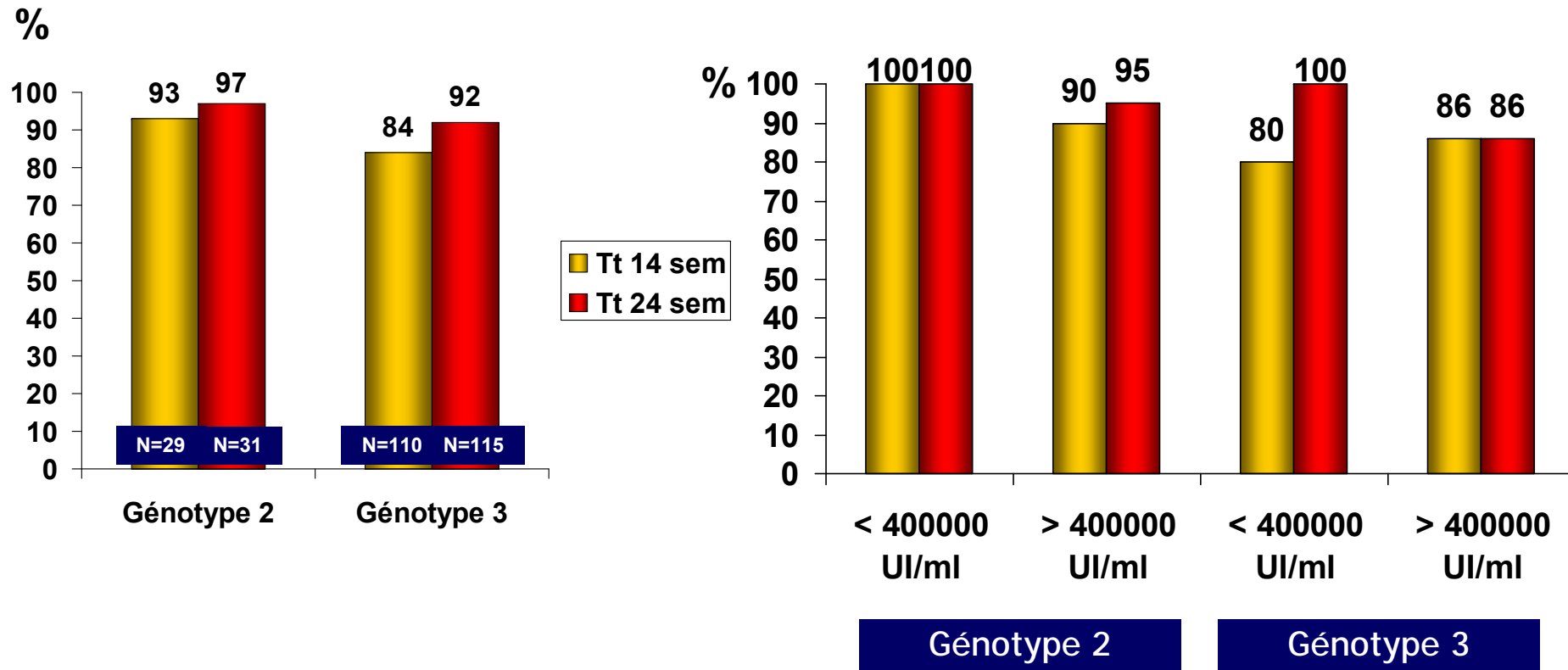


RVR = ARN VHC < 50 UI/ml

# Génotype 2/3 - Faut-il traiter moins longtemps les répondeurs virologiques rapides ?

298 malades avec RVR  
 PEG-IFN alfa-2b 1.5 µg/kg + Ribavirin 800-1400 mg/j

Δ = 7%



RVR = ARN VHC < 50 UI/ml

# Génotype 2/3 - Faut-il traiter moins longtemps les répondeurs virologiques rapides ?

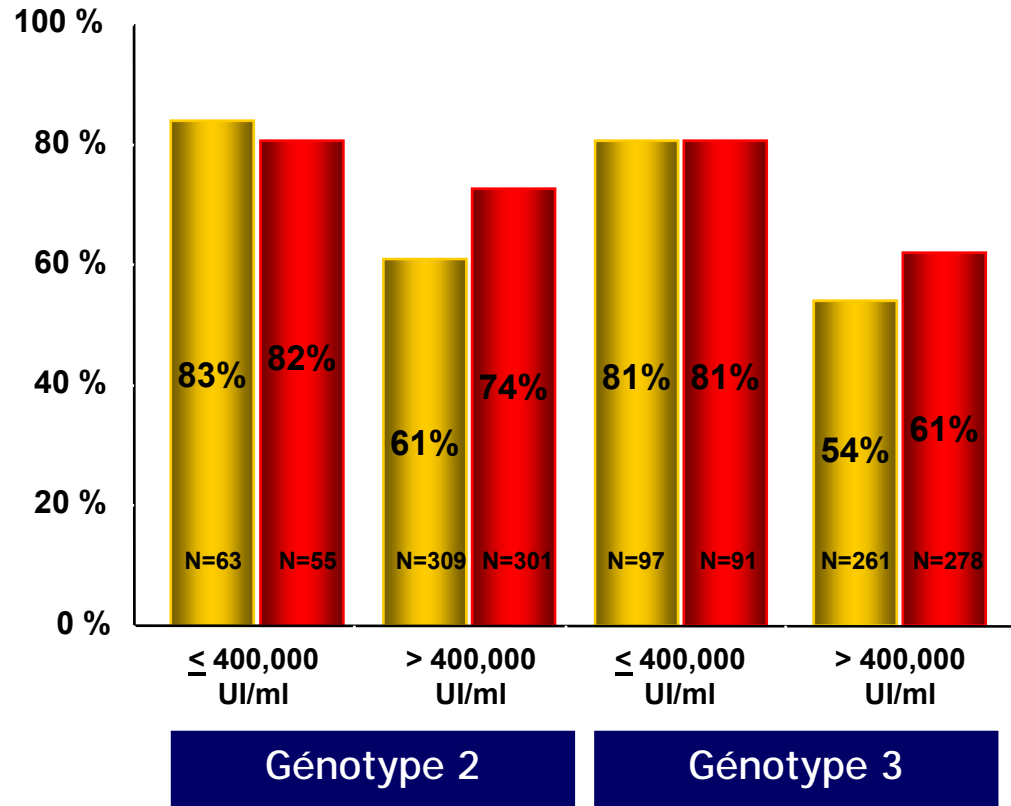
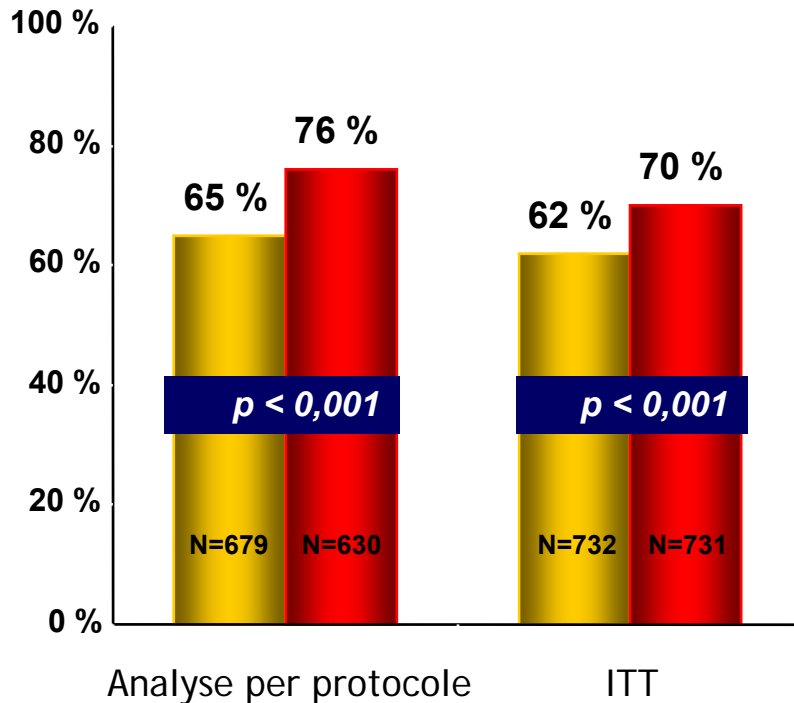
## Étude ACCELERATE

1469 malades avec et sans RVR

■ 16 sem. PEG-IFN alfa-2a 180 ug + RBV 800 mg

■ 24 sem. PEG-IFN alfa-2a 180 ug + RBV 800 mg

△ = 8%

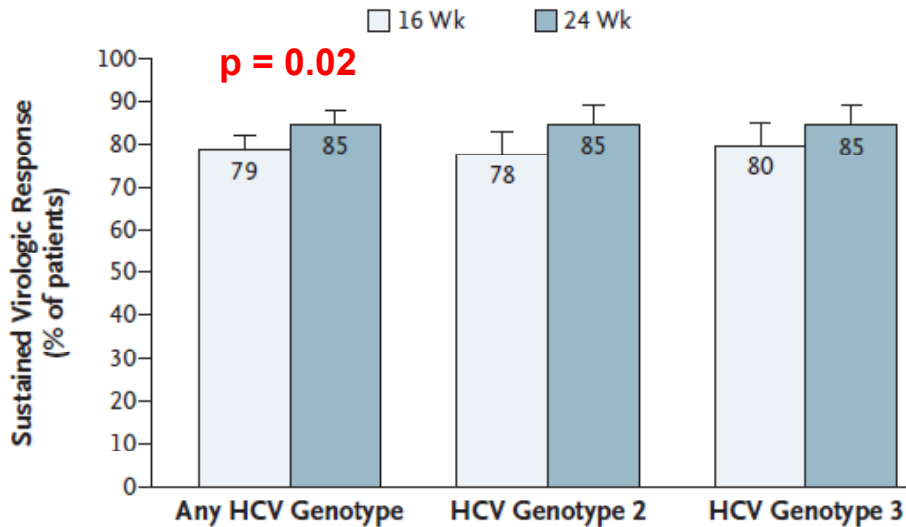


RVR = ARN VHC < 50 UI/ml

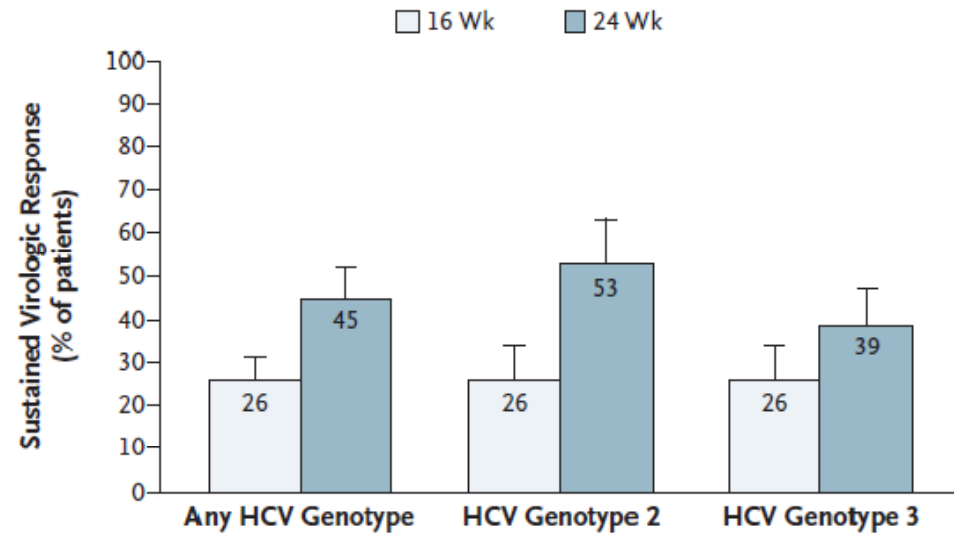
# Génotype 2/3 - Faut-il traiter moins longtemps les répondeurs virologiques rapides ?

## Étude ACCELERATE 953 malades avec RVR

A Patients with a Rapid Virologic Response at Wk 4



B Patients without a Rapid Virologic Response at Wk 4



# Facteurs de rechute pour les traitements de 12 semaines chez les génotypes 2/3

- 718 patients traités de janvier 2005 à juin 2007 par PEG-IFN $\alpha$ -2b 1,5  $\mu$ g/kg/sem + RBV 1 000-1 200 mg/j
- 718 inclus : 222 sans RVR (31,2 %) traitement 24 semaines  
496 avec RVR (68,8 %) traitement 12 semaines

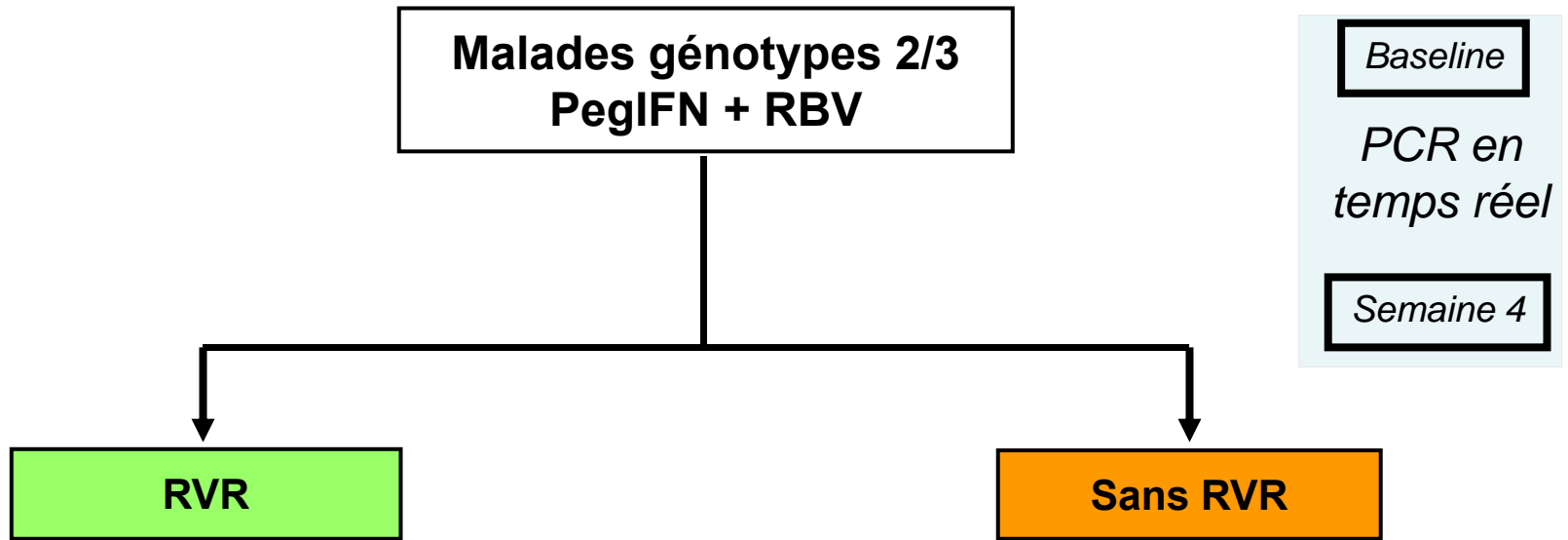
	<b>G2 (n = 561)</b>	<b>G3 (n = 157)</b>
<b>% RVR</b>	69	69
<b>% RVS chez RVR</b>	82	86

- En analyse multivariée, seules les plaquettes < 140 000/mm<sup>3</sup> (RR = 3,7) [IC 95 % = 1,9 - 7,2] et IMC > 30 kg/m<sup>2</sup> (RR = 3) [IC 95 % = 1,6 - 6,3] étaient associés à la rechute
- Le retraitement des 43 rechuteurs pour 24 semaines a permis d'obtenir 72 % de RVS
- ➔ Un traitement de 12 semaines peut-être proposé aux génotype 2 ou 3 en cas de RVR et en l'absence d'IMC > 30 kg/m<sup>2</sup> ou de plaquettes < 140 000/mm<sup>3</sup>

# Génotype 2/3 - Faut-il traiter plus longtemps les répondeurs virologiques lents ?

---

- Pas de données à l'heure actuelle
  - 2 études comparant 24 et 48 semaines de traitement chez les malades G2/3
  - Pas d'analyse de sensibilité en fonction de l'évolution de la charge virale
- Utilité de prolonger le traitement chez les répondeurs virologiques lents ?



**Malades géotypes 2/3  
PegIFN + RBV**

*Baseline*

*PCR en  
temps réel*

*Semaine 4*

**RVR**

**Sans RVR**

**Traitement 12-16 sem**

si CV initiale basse et pas de cofacteur de fibrose

**Traitement 24 sem.**

**RVS = 80-90%**

**RVS = 50%**

# Outils virologiques et Tt anti-viral

---

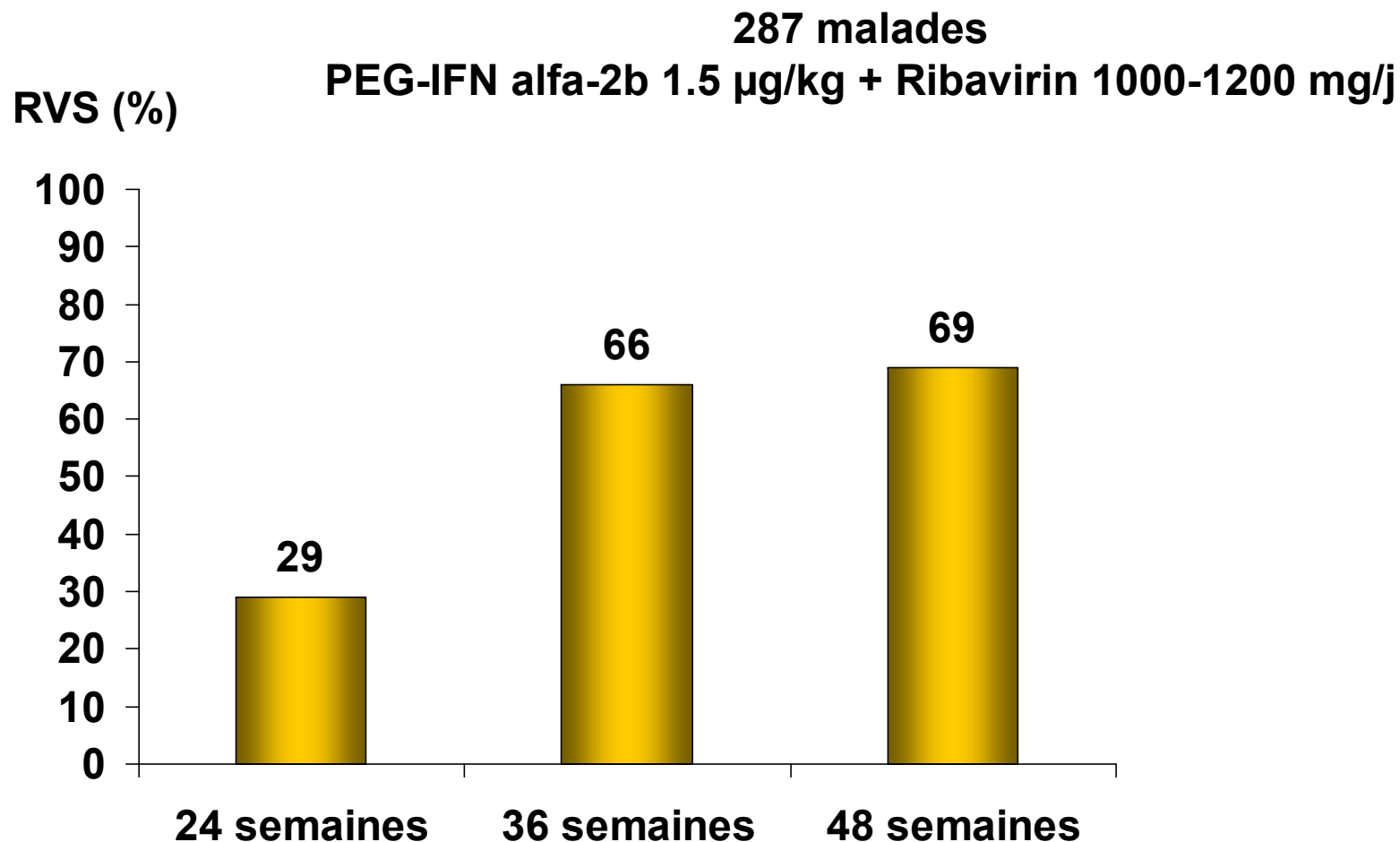
➤ **Génotype 1**

➤ **Génotypes 2/3**

➤ **Génotype 4**

➤ **Rechuteurs et non répondeurs**

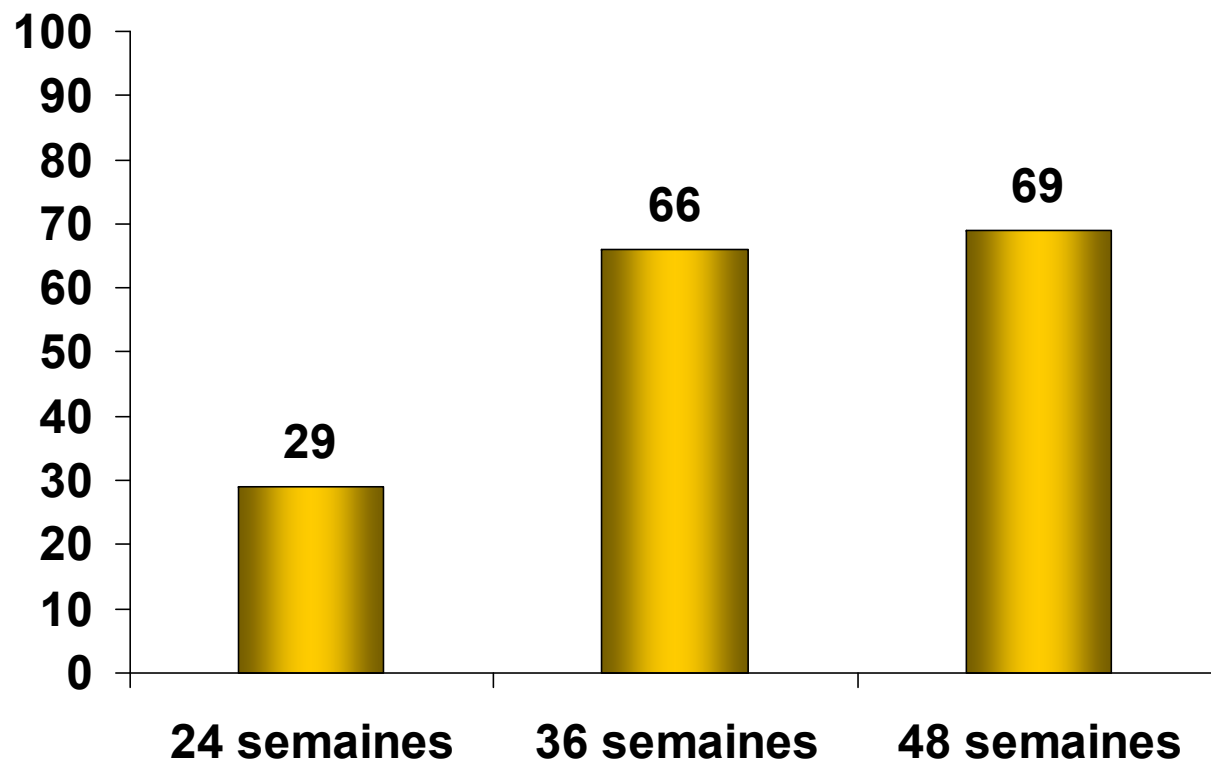
# Génotype 4 - Faut-il traiter moins longtemps ?



# Génotype 4 - Faut-il traiter moins longtemps ?

287 malades  
PEG-IFN alfa-2b 1.5 µg/kg + Ribavirin 1000-1200 mg/j

RVS (%)



CV > 600000 UI/ml :

SVR 48S > 36S

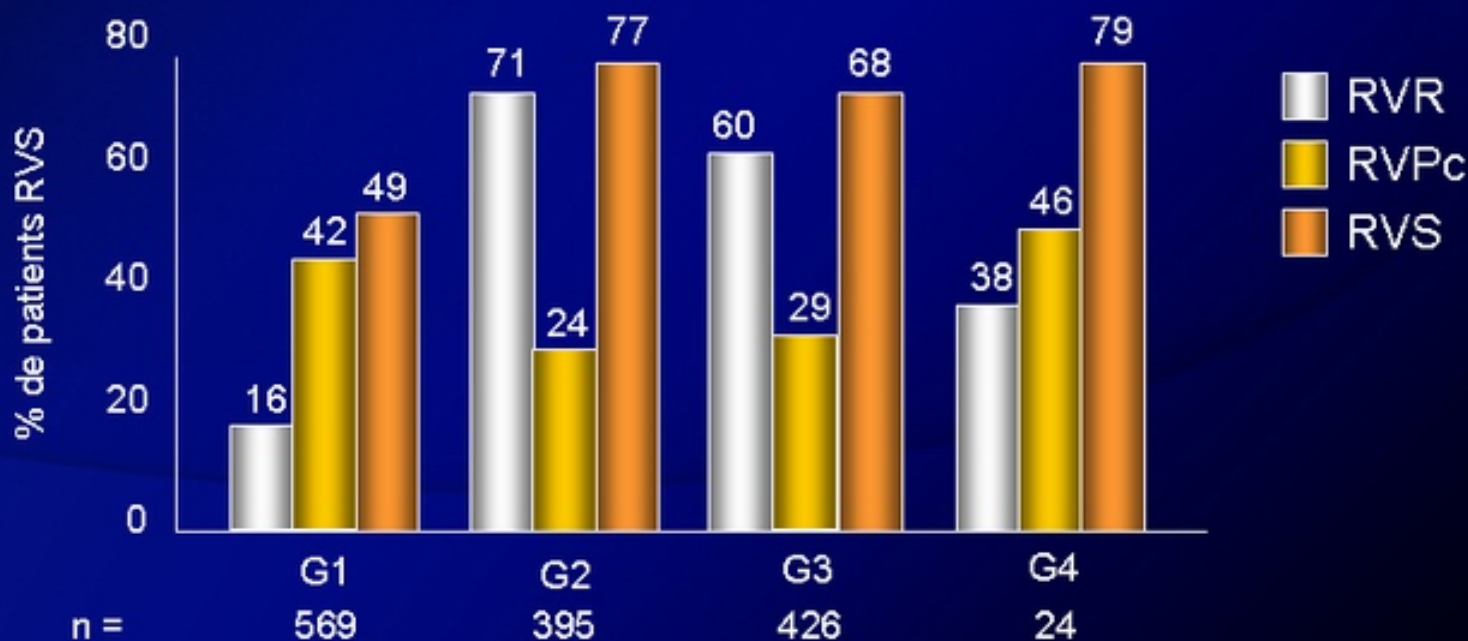
→ Tt 36 semaines si

CV < 600000 UI/ml

# La RVR à S4 est un facteur plus important que le génotype pour la prédiction de la RVS

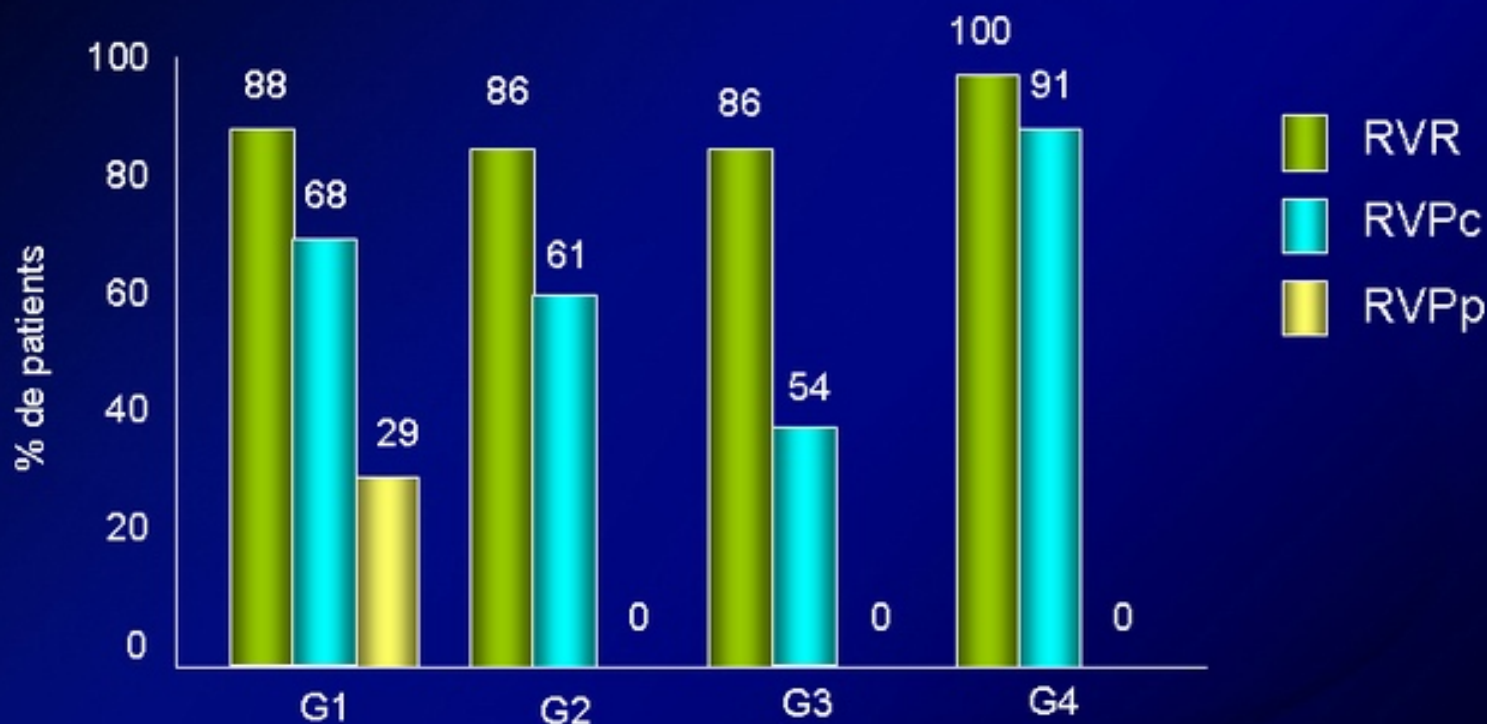
- Analyse rétrospective sur des données issues de 3 études randomisées regroupant :
  - 1 383 patients traités par PEG-IFN $\alpha$ -2a (180  $\mu$ g/sem) et RBV (800 mg/j) pendant 24 sem. pour les génotypes 2-3 et RBV (1 000-1 200 mg/j) pendant 48 sem. pour les génotypes 1-4
  - RVR = ARN < 50 UI/ml à S4
  - RVPc = ARN < 50 UI/ml à S12
  - RVPp = diminution ARN  $\geq$  2 log UI/ml à S12 et ARN > 50 UI/ml

## Réponse virologique selon les génotypes



# La RVR à S4 est un facteur plus important que le génotype pour la prédiction de la RVS

## RVS selon les génotypes, la RVR et la RVP



- En régression multiple, la RVR est plus importante (OR = 7,55) que le génotype pour prédire la RVS

La RVR (ARN < 50 UI/ml à S4) est la variable la plus prédictive de RVS (> 86 %)

# Outils virologiques et Tt anti-viral

---

➤ Génotype 1

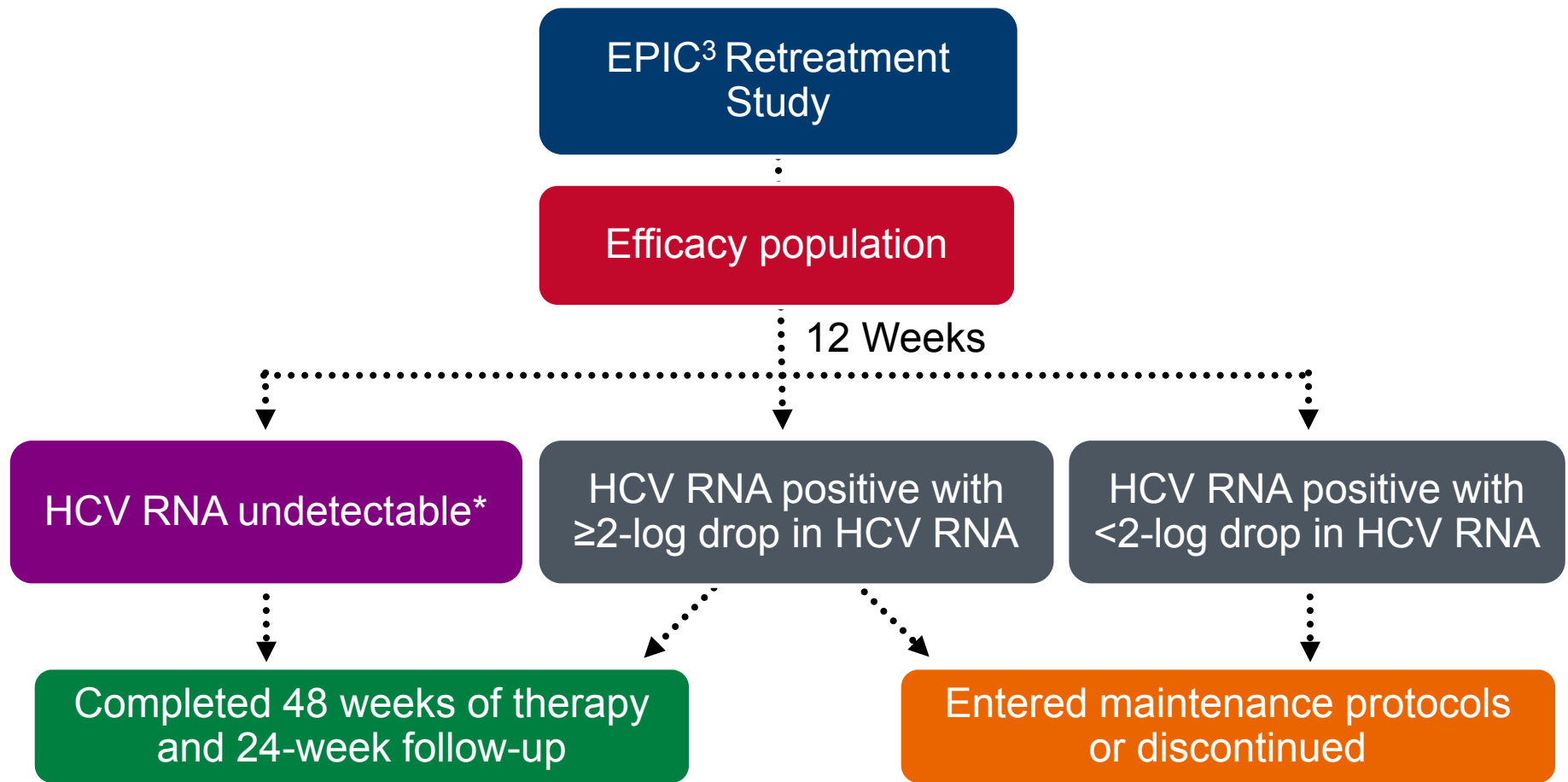
➤ Génotypes 2/3

➤ Génotype 4

➤ **Rechuteurs et non répondeurs**

# EPIC : Retraitement des rechuteurs et des non répondeurs

*Peg-IFN alfa-2b (1.5 µg/kg/wk) + RBV (800–1400 mg/d), 48 Weeks*

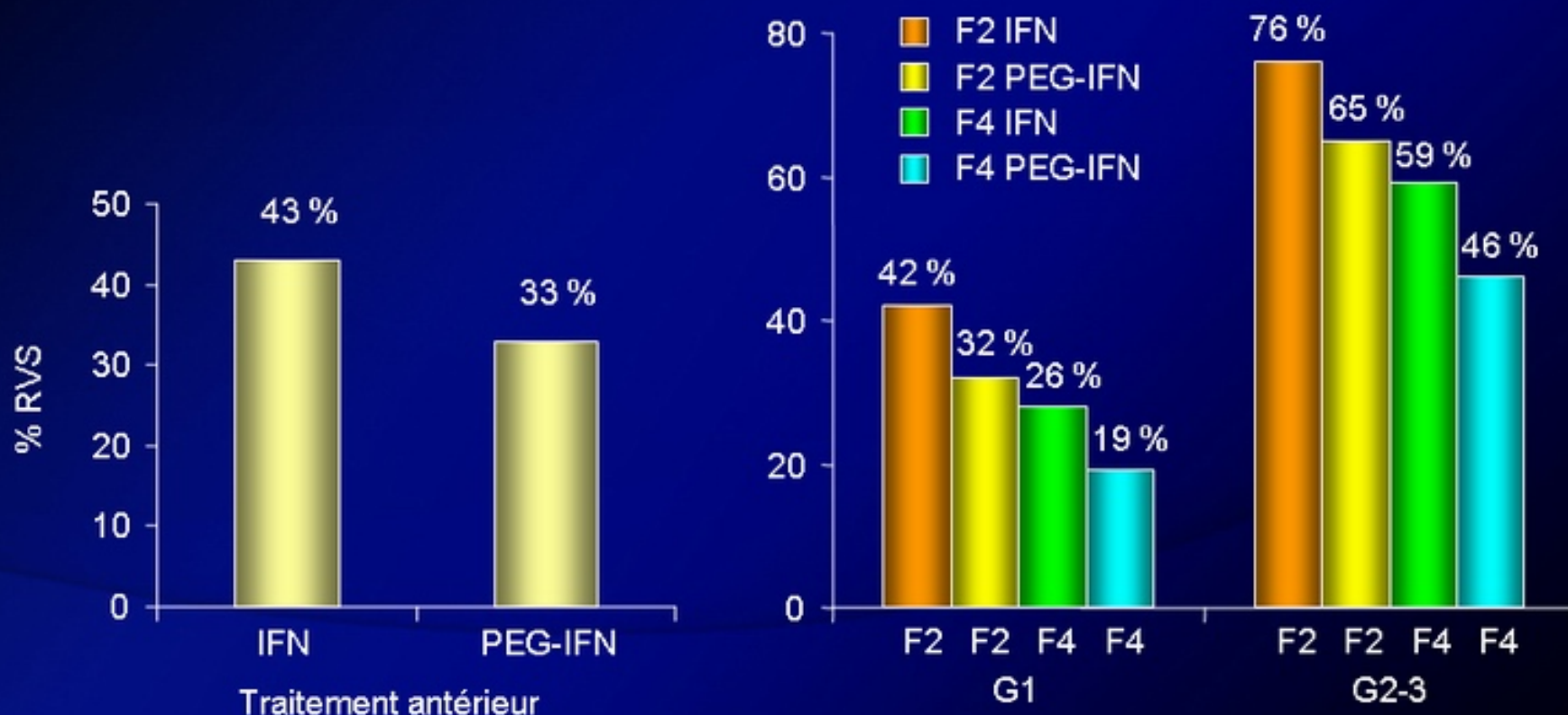


\*LLD, <125 IU/mL.

†Continued in the protocol at the discretion of the investigator.

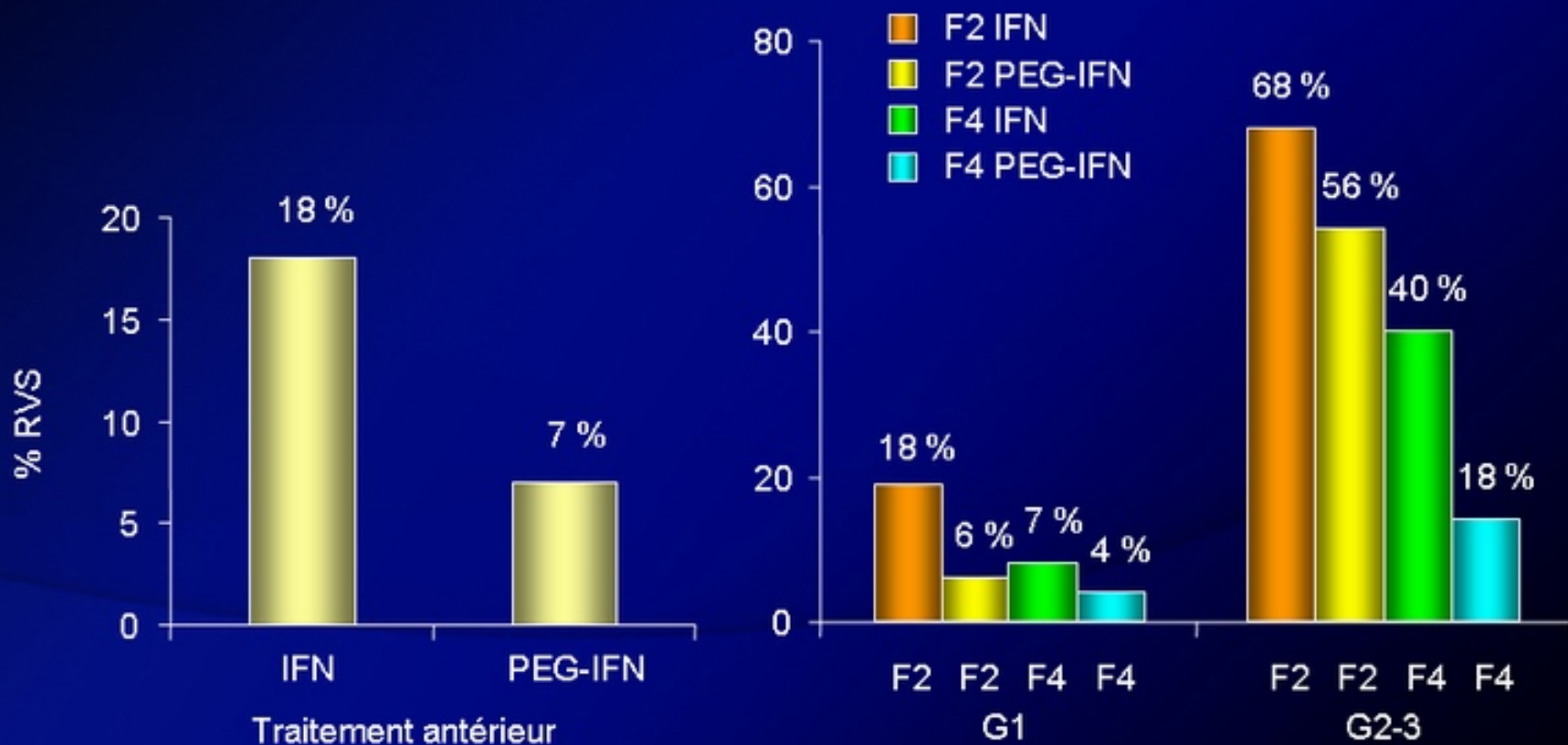
# EPIC - Rechuteurs

- 647 rechuteurs à une bithérapie standard ou pégylée
- Retraitement par PEG-IFN $\alpha$ -2b 1,5  $\mu$ g/kg/sem + RBV 800-1 400 mg/j 48 sem.



# EPIC - Non répondeurs

- 1 401 non-répondeurs à une bithérapie standard ou pégylée
- Retraitement par PEG-IFN $\alpha$ -2b 1,5  $\mu$ g/kg/sem + RBV 800-1 400 mg/j 48 sem.



# EPIC

- Intérêt des cinétiques virales à S12 = prédictivité de RVS

ARN VHC < 50 UI/ml : 56 % RVS

ARN VHC  $\geq$  2 log mais PCR+ : 12 % RVS

ARN VHC < 2 log UI/ml : 0 % RVS

	G1 (n = 507)	G2 (n = 58)	G3 (n = 223)	G4 (n = 29)
% RVS si ARN VHC < 50 UI/ml à S12	48	76	68	62

% RVS 22 %

Non-répondeurs : 4-56 %

Rechuteurs : 18-62 %

L'indétectabilité de l'ARN VHC à S12 reste le meilleur facteur prédictif de RVS (56 %)

- ➔ Malgré une non-réponse à un premier traitement, un retraitement par PEG-IFN + RBV sera proposé selon la réponse antérieure, le génotype, la charge virale et surtout la cinétique virale à S12

**Relapsers and Non responders  
Retreatment with PegIFN/Riba**

**HCV RNA  
Week 12**

**Detectable**

**Consider stopping  
treatment**

**Undetectable**

**Continue treatment  
for 48 weeks**

# Conclusions (1)

---

- Les outils virologiques n'ont pas d'utilité pronostique en dehors d'un traitement anti-viral
- Le génotype et la charge virale sont les principaux facteurs prédictifs de la réponse thérapeutique avant le début du traitement anti-viral
- L'évolution de la charge virale est le principal facteur prédictif de la réponse thérapeutique au cours du traitement anti-viral
- Les techniques de PCR en temps réel doivent être utilisées en routine

# Conclusions (2)

---

- Les malades répondeurs virologiques rapides pourraient être traités moins longtemps :
  - 24 semaines pour les Génotypes 1
  - 12-16 semaines pour les Génotypes 2/3en l'absence de cofacteurs de fibrose
- Les malades répondeurs virologiques lents devraient être traités plus longtemps
  - 72 semaines pour les Génotypes 1
  - Génotypes 2/3 ?

