

AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il n'a pas été réévalué depuis la date de soutenance.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact au SICD1 de Grenoble : **thesebum@ujf-grenoble.fr**

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

UNIVERSITE JOSEPH FOURIER
FACULTE DE MEDECINE DE GRENOBLE

Année : 2014

N°

Fréquence et signification des blips au cours du traitement de
l'hépatite B par analogues de deuxième génération

THESE
PRESENTEE POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN MEDECINE
DIPLOME D'ETAT

Par Aude MONTCHAUD

Née le 16 juillet 1986

A Saint Priest

THESE SOUTENUE PUBLIQUEMENT A LA FACULTE DE MEDECINE DE GRENOBLE*

Le : mardi 28 octobre 2014

DEVANT LE JURY COMPOSE DE

Président du jury : Monsieur le Professeur ZARSKI Jean Pierre

Membres

Monsieur le Professeur LEROY Vincent

Madame le Professeur STANKE-LABESQUE Françoise

Madame le Docteur HILLERET Marie-Noëlle

Madame le Docteure LARRAT Sylvie

**La Faculté de Médecine de Grenoble n'entend donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans les thèses ; ces opinions sont considérées comme propres à leurs auteurs.*

UNIVERSITE JOSEPH FOURIER
FACULTE DE MEDECINE DE GRENOBLE

Année : 2014

N°

Fréquence et signification des blips au cours du traitement de
l'hépatite B par analogues de deuxième génération

THESE
PRESENTEE POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN MEDECINE
DIPLOME D'ETAT

Par Aude MONTCHAUD

Née le 16 juillet 1986

A Saint Priest

THESE SOUTENUE PUBLIQUEMENT A LA FACULTE DE MEDECINE DE GRENOBLE*

Le : mardi 28 octobre 2014

DEVANT LE JURY COMPOSE DE

Président du jury : Monsieur le Professeur ZARSKI Jean Pierre

Membres

Monsieur le Professeur LEROY Vincent

Madame le Professeur STANKE-LABESQUE Françoise

Madame le Docteur HILLERET Marie-Noëlle

Madame le Docteure LARRAT Sylvie

**La Faculté de Médecine de Grenoble n'entend donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans les thèses ; ces opinions sont considérées comme propres à l'auteur*

Faculté de Médecine de Grenoble

Postes PU-PH 2013-2014 au 01/09/2013

Occupation Actuelle	Section.ss° CNU	Discipline Universitaire
ALBALADEJO Pierre Depuis 01/09/2008	48.01	Anesthésiologie-réanimation
ARVIEUX Catherine Depuis de 01/09/2007	53.02	Chirurgie générale
BACONNIER Pierre Depuis 01/10/1993	46.04	Biostat, informatique médicale et technologies de communication
BAGUET Jean-Philippe Depuis 01/09/2006	51.02	Cardiologie
BALOSSO Jacques Depuis 01/09/2003	47.02	Radiothérapie
BARRET Luc Depuis 01/10/1992	46.03	Médecine légale et droit de la santé
BAUDAIN Philippe Depuis 01/05/1990	43.02	Radiologie et imagerie médicale
BEANI Jean-Claude Depuis 01/10/1992	50.03	Dermato-vénéréologie
BENHAMOU Pierre Yves Depuis 01/09/2003	54.04	Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques
BERGER François Depuis 01/09/2001	44.03	Biologie cellulaire
BETTEGA Georges Depuis 01/09/2013	55.03	Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie
BONAZ Bruno Depuis 01/09/2001	52.01	Gastro-entérologie, hépatologie, addictologie
BOSSON Jean-Luc Depuis 01/01/2006	46.04	Biostat, informatique médicale et technologies de communication
BOUGEROL Thierry Depuis 01/09/1998	49.03	Psychiatrie d'adultes
BOUILLET Laurence Depuis 01/09/2012	53.01	Médecine interne
BRAMBILLA CHRISTIAN Depuis 01/10/1989	51.01	Pneumologie
BRAMBILLA Elisabeth Depuis 01/10/1993	42,03	Anatomie et cytologie pathologiques
BRICAULT Ivan Depuis 01/09/2011	43.02	Radiologie et imagerie médicale
BRICHON Pierre-Yves Depuis 01/10/1993	51.03	Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
CAHN Jean-Yves Depuis 01/09/2004	47.01	Hématologie
CARPENTIER Françoise Depuis 01/09/1997	48.04	Thérapeutique, médecine d'urgence
CARPENTIER Patrick Depuis 01/10/1990	51.04	Chirurgie vasculaire, médecine vasculaire
CESBRON Jean-Yves Depuis 01/09/1999	47.03	Immunologie
CHABARDES Stephan Depuis 01/09/2010	49.02	Neurochirurgie
CHABRE Olivier Depuis 01/09/2002	54.04	Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques
CHAFFANJON Philippe Depuis 01/09/2005	42.01	Anatomie
CHAVANON Olivier Depuis 01/09/2006	51.03	Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
CHIQUET Christophe Depuis 01/09/2007	55.02	Ophthalmologie
CHIROSSSEL Jean-Paul Depuis 01/06/1990	42.01	Anatomie

CINQUIN Philippe Depuis 01/10/1992	46.04	Biostat, informatique médicale et technologies de communication
COHEN Olivier Depuis 01/09/2003	46.04	Biostat, informatique médicale et technologies de communication
COUTURIER Pascal Depuis 01/09/2007	53.01	Gériatrie et biologie du vieillissement
CRACOWSKI Jean-Luc Depuis 01/09/2009	48.03	Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique
DE GAUDEMARIS Régis Depuis 01/07/1992	46.02	Médecine et santé au travail
DEBILLON Thierry Depuis 01/09/2003	54.01	Pédiatrie
DEMATTEIS Maurice Depuis 01/09/2010	48.03	Addictologie
DEMONGEOT Jacques Depuis 01/10/1989	(46.04)	Biostat, informatique médicale et technologies de communication
DESCOTES Jean-Luc Depuis 01/09/1997	52.04	Urologie
ESTEVE François Depuis 01/09/2004	43.01	Biophysique et médecine nucléaire
FAGRET Daniel Depuis 01/10/1992	43.01	Biophysique et médecine nucléaire
FAUCHERON Jean-Luc Depuis 01/09/2001	53.02	Chirurgie générale
FERRETTI Gilbert Depuis 01/09/2000	43.02	Radiologie et imagerie médicale
FEUERSTEIN Claude Depuis 01/07/1992	44.02	Physiologie
FONTAINE Eric Depuis 01/01/2006	44.04	Nutrition
FRANCOIS Patrice Depuis 01/09/1998	46.01	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
GARBAN Frédéric Depuis 01/09/2011	47.01	Hématologie, transfusion
GAUDIN Philippe Depuis 01/09/2001	50.01	Rhumatologie
GAVAZZI Gaetan Depuis 01/09/2011	53.01	Gériatrie et biologie du vieillissement
GAY Emmanuel Depuis 01/09/2004	49.02	Neurochirurgie
GODFRAIND Catherine Depuis 01/09/2013	42.03	Anatomie et cytologie pathologiques
GRIFFET Jacques Depuis 01/03/2010	54.02	Chirurgie infantile
HALIMI Serge Depuis 01/10/1990	44/04	Nutrition
HENNEBICQ Sylviane Depuis 01/09/2012	54.05	Biologie et médecine du développement et de la reproduction
HOFFMANN Pascale Depuis 01/09/2012	54.03	Gynécologie-obstétrique
HOMMEL Marc Depuis 01/09/1995	49.01	Neurologie
JOUK Pierre-Simon Depuis 01/09/1997	54.05	Génétique
JUVIN Robert Depuis 01/10/1993	50.01	Rhumatologie
KAHANE Philippe Depuis 01/09/2007	44.02	Physiologie
KRACK Paul Depuis 01/09/2003	49.01	Neurologie
KRAINIK Alexandre Depuis 01/09/2009	43.02	Radiologie et imagerie médicale
LABARERE José Depuis 01/09/2012	46.01	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
LANTUEJOUL Sylvie Depuis 01/09/2008	42.03	Anatomie et cytologie pathologiques

LECCIA Marie-Thérèse Depuis 01/09/2002	50.03	Dermato-vénérologie
LEROUX Dominique Depuis 01/09/1996	47.04	Génétique
LEROY Vincent Depuis 01/09/2007	52.01	Gastro-entérologie, hépatologie, addictologie
LETOUBLON Christian Depuis 01/05/1992	53.02	Chirurgie générale
LEVY Patrick Depuis 01/09/1997	44.02	Physiologie
MACHECOURT Jacques Depuis 01/10/1989	51.02	Cardiologie
MAGNE Jean-Luc Depuis 01/07/1990	51.04	Chirurgie vasculaire
MAITRE Anne Depuis 01/09/2007	46.02	Médecine et santé au travail
MAURIN Max Depuis 01/09/2002	45/01	Bactériologie-virologie
MERLOZ Philippe Depuis 01/10/1991	50.02	Chirurgie orthopédique et traumatologie
MORAND Patrice Depuis 01/09/2007	45.01	Bactériologie-virologie
MOREAU-GAUDRY Alexandre Depuis 01/09/2013	46.04	Biostat, informatique médicale et technologies de communication
MORO Elena Depuis 01/09/2012	49.01	Neurologie
MORO-SIBILOT Denis Depuis 01/09/2005	51.01	Pneumologie
MOUSSEAU Mireille Depuis 01/09/1994	47.02	Cancérologie
MOUTET François Depuis 01/10/1990	50.04	Chirurgie plastique, reconstructrice & esthétique, brûlologie
PALOMBI Olivier Depuis 01/09/2011	42.01	Anatomie
PARK Sophie Depuis 01/09/2013	47.01	Hématologie
PASSAGIA Jean-Guy Depuis 01/09/1994	49.02	Neurochirurgie
PAYEN DE LA GARANDERIE JF Depuis 01/09/1996	48.01	Anesthésiologie-réanimation
PELLOUX Hervé Depuis 01/09/2001	45.02	Parasitologie et mycologie
PEPIN Jean-Louis Depuis 01/09/2004	44.02	Physiologie
PERENNOU Dominique Depuis 01/04/2008	49.05	Médecine physique et de réadaptation
PERNOD Gilles Depuis 01/09/2007	51.04	Médecine vasculaire
PIOLAT Christian Depuis 01/09/2009	54.02	Chirurgie infantile
PISON Christophe Depuis 01/09/1994	51.01	Pneumologie
PLANTAZ Dominique Depuis 01/09/2003	54.01	Pédiatrie
POLACK Benoît Depuis 01/09/1998	47.01	Hématologie
POLOSAN Mircea Depuis 01/09/2013	49.03	Psychiatrie d'adultes
PONS Jean-Claude Depuis 01/09/1998	54.03	Gynécologie-obstétrique
RAMBEAUD Jean-Jacques Depuis 01/07/1991	52.04	Urologie
REYT Emile Depuis 01/10/1992	55.01	Oto-rhyno-laryngologie
RIGHINI Christian Depuis 01/09/2010	55.01	Oto-rhyno-laryngologie

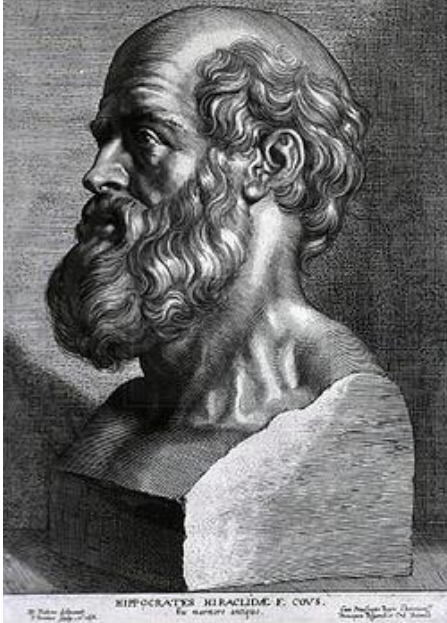
ROMANET J. Paul Depuis 01/10/1991	55.02	Ophthalmologie
SARAGAGLIA Dominique Depuis 01/07/1992	50.02	Chirurgie orthopédique et traumatologie
SCHMERBER Sébastien Depuis 01/09/2005	55.01	Oto-rhyno-laryngologie
SCHWEBEL Carole Depuis 01/09/2012	48.02	Réanimation, médecine d'urgence
SCOLAN Virginie Depuis 01/09/2013	46.03	Médecine légale et droit de la santé
SERGENT Fabrice Depuis 01/09/2011	54.03	Gynécologie-obstétrique
SESSA Carmine Depuis 01/09/2005	51.04	Chirurgie vasculaire
STAHL Jean-Paul Depuis 01/10/1992	45.03	Maladies infectieuses, maladies tropicales
STANKE Françoise Depuis 01/09/2011	48.03	Pharmacologie fondamentale
TAMISIER Renaud Depuis 01/09/2013	44.02	Physiologie
TIMSIT Jean-François	48.02	Réanimation
TONETTI Jérôme 01/09/2007 au 31/12/2010	50.02	Chirurgie orthopédique et traumatologie
TOUSSAINT Bertrand Depuis 01/09/2008	44.01	Biochimie et biologie moléculaire
VANZETTO Gérald Depuis 01/09/1999	51.02	Cardiologie
VUILLEZ Jean-Philippe Depuis 01/09/1999	43.01	Biophysique et médecine nucléaire
WEIL Georges Depui 01/09/2011	46.01	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
ZAOUI Philippe Depuis 01/09/2002	52.03	Néphrologie
ZARSKI Jean-Pierre Depuis 01/09/1994	52.01	Gastro-entérologie, hépatologie, addictologie

Postes MCU-PH 2013-2014 au 01/09/2013

Occupation Actuelle	Section/ss° CNU	Discipline universitaire
APTEL Florent Depuis 01/09/2012	55.02	Ophthalmologie
BOISSET Sandrine Depuis 01/09/2012	45.01	Bactériologie, virologie
BONNETERRE Vincent Depuis 01/09/2011	46.02	Médecine et santé au travail
BOTTARI Serge Depuis 01/10/1993	44.03	Biologie cellulaire
BOUZAT Pierre Depuis 01/09/2012	48.01	Anesthésiologie-réanimation
BRENIER-PINCHART M.Pierre Depuis 01/11/2001	45.02	Parasitologie et mycologie
BRIOT Raphaël Depuis 01/09/2009	48.04	Thérapeutique, médecine d'urgence
CALLANAN-WILSON Mary Depuis 01/09/2002	47.01	Hématologie, transfusion
DECAENS Thomas Depuis 01/09/2013		
DERANSART Colin Depuis 01/09/2004	44.02	Physiologie
DETANTE Olivier Depuis 01/09/2009	49.01	Neurologie
DIETERICH Klaus Depuis 01/09/2012	47.04	Génétique
DUMESTRE-PERARD Chantal Depuis 01/09/2004	47.03	Immunologie
EYSSERIC Hélène Depuis 01/10/2009	46.03	Médecine légale et droit de la santé
FAURE Julien Depuis 01/09/2008	44.01	Biochimie et biologie moléculaire
GILLOIS Pierre Depuis 01/09/2010	46.04	Biostat, informatique médicale et technologies de communication
GRAND Sylvie Depuis 01/09/1995	43.02	Radiologie et imagerie médicale
GUZUN Rita Depuis 01/09/2012	44.04	Nutrition
LAPORTE François Depuis 01/10/1991	44.01	Biochimie et biologie moléculaire
LARDY Bernard Depuis 01/09/2007	44.01	Biochimie et biologie moléculaire
LARRAT Sylvie Depuis 01/09/2009	45.01	Bactériologie, virologie
LAUNOIS-ROLLINAT Sandrine Depuis 01/09/2001	44.02	Physiologie
LONG Jean-Alexandre Depuis 01/09/1999	52.04	Urologie
MAIGNAN Maxime Depuis 01/09/2013	48.04	Médecine d'urgence
MALLARET Marie-Reine Depuis 01/08/1992	46.01	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
MARLU Raphaël Depuis 01/09/2013	47.01	Hématologie
MAUBON Danièle Depuis 01/09/2010	45.02	Parasitologie et mycologie
MC LEER (FLORIN) Anne Depuis 01/09/2011	42.02	Cytologie et histologie
MOUCHET Patrick Depuis 01/10/1992	44.02	Physiologie
PACLET Marie-Hélène Depuis 01/09/2007	44.01	Biochimie et biologie moléculaire
PAYSANT François Depuis 01/02/2008	46.03	Médecine légale et droit de la santé

PELLETIER Laurent Depuis 01/01/2006	44.03	Biologie cellulaire
RAY Pierre Depuis 01/09/2003	47.04	Génétique
RIALLE Vincent Depuis 01/09/2001	46.04	Biostat, informatique médicale et technologies de communication
ROUSTIT Matthieu Depuis 01/08/1990	48.03	Pharmacologie clinique
ROUX-BUISSON Nathalie Depuis 01/09/2012	44.01	Biochimie et génétique moléculaire
SATRE Véronique Depuis 01/09/2005	47.04	Génétique
SEIGNEURIN Arnaud Depuis 01/09/2013	46.01	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
STASIA Marie-Josée Depuis 01/08/1992	44.01	Biochimie et biologie moléculaire

SERMENT D'HIPPOCRATE



En présence des Maîtres de cette Faculté, de mes chers condisciples et devant l'effigie d'HIPPOCRATE,

Je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine.

Je donnerai mes soins gratuitement à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au dessus de mon travail. Je ne participerai à aucun partage clandestin d'honoraires.

Admis dans l'intimité des maisons, mes yeux n'y verront pas ce qui s'y passe ; ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs, ni à favoriser le crime.

Je ne permettrai pas que des considérations de religion, de nation, de race, de parti ou de classe sociale viennent s'interposer entre mon devoir et mon patient.

Je garderai le respect absolu de la vie humaine.

Même sous la menace, je n'admettrai pas de faire usage de mes connaissances médicales contre les lois de l'humanité.

Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque

Remerciements

A mon président de thèse le Professeur Jean-Pierre ZARSKI,

Vous me faites le très grand honneur de présider ce jury de thèse. Je vous remercie de l'intérêt que vous portez à ce travail. Recevez ici toute ma reconnaissance et l'expression de mon plus profond respect.

A mon directeur de thèse, le Professeur Vincent LEROY

Je vous remercie de m'avoir proposé ce travail de thèse. Merci pour votre aide et de m'avoir guidée tout au long de ce travail. Merci également pour votre enseignement tout au long de mon internat. Soyez assuré de toute ma gratitude.

Aux membres du jury,

Au Professeur Françoise STANKE-LABESQUE,

Je vous suis extrêmement reconnaissante d'avoir accepté de participer au jury de soutenance de ma thèse. Je vous remercie pour votre aide dans la réalisation des dosages pharmacologiques.

Au docteur Marie-Noëlle HILLERET,

Merci d'avoir accepté de participer à mon jury de thèse. Merci pour l'aide dans la réalisation de cette thèse et merci pour ta participation à ma formation lors de mon internat.

Au docteur Sylvie LARRAT,

Vous me faites l'honneur et la gentillesse de participer à mon jury de thèse. Il était important à mes yeux de pouvoir présenter ce travail à un virologue et je vous remercie de l'intérêt que vous avez porté à mon travail.

A ma famille, à mes amis, merci pour votre soutien tout au long de mes études de médecine.

A mes co-internes, vous avez été indispensable pour pouvoir affronter cet internat.

Aux médecins du service, vous avez participé à ma formation, fait découvrir la discipline et je vous en serai toujours reconnaissante.

Sommaire

I°) Le virus de l'hépatite B.....	14
1) Généralités.....	14
a. Les caractéristiques virologiques.....	14
b. Épidémiologie.....	16
c. Mode de transmission.....	17
2) Hépatite aiguë B.....	18
3) Hépatite chronique B.....	20
a. Définition.....	20
b. Les différentes phases de l'hépatite chronique B.....	21
i. Phase de tolérance immunitaire.....	21
ii. Phase de « réaction immunitaire ».....	21
iii. Phase de portage inactif du VHB.....	22
iv. Hépatite chronique B antigène HBe négatif.....	22
v. Phase antigène HBs négatif.....	23
c. Complications.....	24
4) Prise en charge thérapeutique.....	25
a. Intérêts du traitement de l'hépatite chronique B.....	25
i. L'hépatite B et le risque évolutif de cirrhose.....	26
ii. Hépatocarcinogenèse virale B.....	27
b. Bilan pré-thérapeutique.....	28
c. Indications de traitement.....	30
d. Principe du traitement.....	32
i. Résultat à un an de traitement pour les patients AgHBe (+)....	33

ii.	Résultat à un an de traitement pour les patients AgHBe (-).....	34
iii.	Risque de résistance.....	35
iv.	Bénéfices associés à la virosuppression.....	36
1)	Bénéfice spécifique de l’entecavir.....	37
2)	Bénéfice spécifique du ténofovir.....	38
3)	Bénéfice spécifique sur la survenue de CHC.....	39
e.	L’observance.....	40
II°)	Les blips.....	41
1)	Introduction.....	41
2)	Organisation de l’article.....	41
3)	Soumission.....	45
III°)	Article.....	46
1)	Résumé en Français.....	46
2)	Résumé en Anglais.....	49
3)	Article original.....	50
4)	Référence.....	61
5)	Tableaux.....	63
6)	Figures.....	68
IV°)	Synthèse.....	72
V°)	Conclusion.....	74
IV°)	Annexe.....	76
V°)	Bibliographie.....	77

Abréviations

VHB ; Virus de l'hépatite B

VHC ; Virus de l'hépatite C

VIH ; Virus de l'immunodéficience humaine

ADN ; L'acide désoxyribonucléique

EASL ; European Association for the Study of the Liver.

AgHBs ; Antigène HBs

AgHBe ; Antigène HBe

Ac antiHBc ; Anticorps anti HBc

Ac antiHbe ; Anticorps anti HBe

CHC ; Carcinome hépato-cellulaire

Son génome est un ADN de 3 200 nucléotides circulaires double brin comportant un brin long et un brin court. Il s'agit d'un génome de petite taille avec un cadre de lecture partiellement chevauchant. Ce génome contient quatre gènes appelés S, C, P et X.

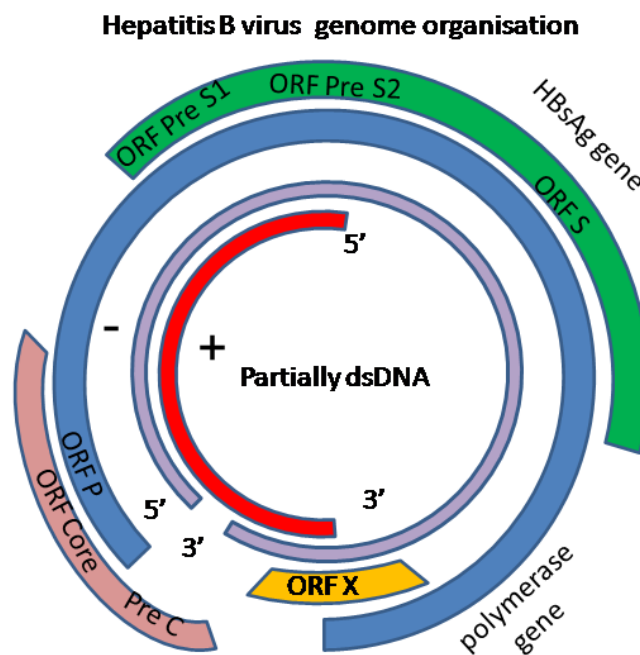
Le gène S code pour la protéine majeure de l'enveloppe et porte l'antigénicité HBs.

La région P code pour l'enzyme ADN polymérase nécessaire à la réplication de l'ADN viral.

La fonction du gène X est mal connue.

La région C code pour un polypeptide portant les déterminants antigéniques HBc et HBe. [4]

Figure 2 : Organisation du génome du virus de l'hépatite B



Source http://commons.wikimedia.org/wiki/File:HBV_genome.png?uselang=fr

Tim Vickers

Consulté le 20/10/2014

Le meilleur marqueur de multiplication virale est la détection de l'ADN viral (ADN VHB) dans le sérum.

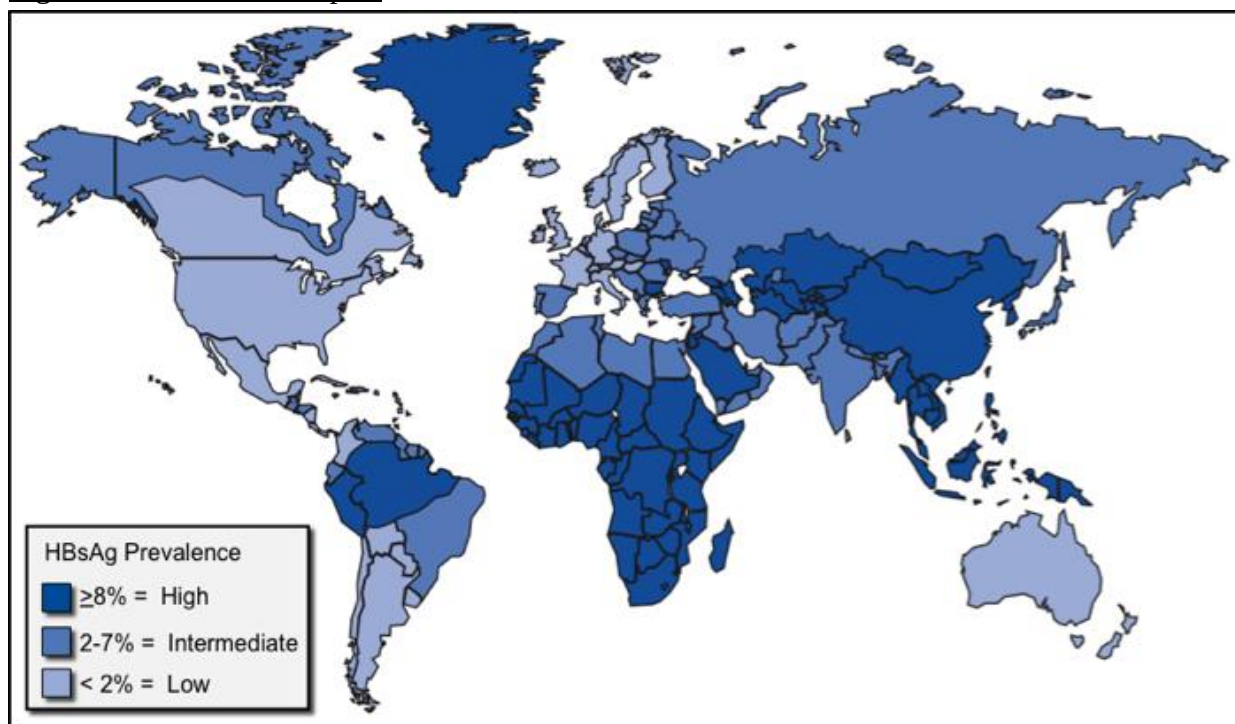
b. Épidémiologie

L'hépatite B représente un des principaux problèmes de santé publique dans le monde. Environ 2 milliards de personnes (un tiers de la population mondiale) ont des marqueurs sérologiques témoignant de l'existence d'une infection ancienne ou d'une infection chronique par le virus de l'hépatite B. Environ 350 à 400 millions de personnes ont une infection chronique par le VHB d'après les dernières données de l'EASL. [1 ; 2]

La France est un pays de faible endémicité. En 2004, la prévalence des anticorps anti-HBc a été estimée à 7.3% dans la population générale âgée de 18 à 80 ans vivant en France métropolitaine, ce qui correspondait à 3.2 millions de personnes ayant été infectée par le virus de l'hépatite B au cours de leur vie. Il a été estimé que 280 821 personnes étaient porteuses de l'AgHBs, soit une prévalence age AgHbS dans le monde

de l'hépatite B chronique de 0.65%. [5]

Figure 3 : Prévalence du port



Source : <http://depts.washington.edu/hepstudy/hepB/prevention/vaccination/discussion.html>

Consulté le 20/10/2014

© 2006-13 University of Washington

La morbidité et la mortalité de l'hépatite B sont liées au risque d'évolution vers une cirrhose (25 %) avec des risques de complications propres à type d'insuffisance hépatique grave ou de carcinome hépatocellulaire.

L'hépatite B est responsable de plus de 0.5 à un million de morts par an dans le monde et représente actuellement 5 à 10 % des cas de transplantation hépatique.

Le carcinome hépatocellulaire est un des cancers les plus fréquents dans le monde et le virus de l'hépatite B est responsable de 75 % de ces cancers. [1]

En France au cours de l'année 2001, le taux de décès associé à l'infection par le VHB a été estimé à 2.6 pour 100 000 par habitant et le taux de décès attribuable à l'infection par le VHB à 2.2 pour 100 000 par habitant (soit 1 327 décès). Une cirrhose était présente dans 93% des cas et 35% des patients atteints de cirrhose avaient un carcinome-hépatocellulaire. [5]

c. Mode de transmission

Il existe 4 principaux modes de contamination par le VHB :

- la transmission verticale de la mère à l'enfant lors de l'accouchement (prédominant dans les zones à haute prévalence et pauvre : Asie du Sud-Est, Afrique subsaharienne, Chine et Amazonie) ;
- les relations sexuelles (Europe de l'Ouest et du Nord, Amérique du Nord, Australie) ;
- les transmissions sanguines : contact avec du sang ou des dérivés du sang ;
- les contacts dans la famille ou dans une collectivité. La transmission se fait le plus souvent par le partage d'objets de toilette ou par des lésions cutanées.

L'histoire naturelle de l'infection va pouvoir être modifiée en fonction des coinfections par d'autres virus, en particulier les virus de l'hépatite C, de l'hépatite D ou du virus de l'immunodéficience humaine.

2) Hépatite aiguë B

L'incubation est longue. Elle est de 6 semaines à 4 mois. L'infection par le VHB peut entraîner une hépatite aiguë plus ou moins sévère. Elle peut parfois être dans un nombre faible de cas être fulminante (0.01%).

En France en 2010, l'incidence de l'hépatite aiguë B symptomatique a été estimée à 1.6 pour 100 00 habitants soit 1 021 nouveaux cas. [7]

Elle peut évoluer vers une hépatite chronique qui peut être active avec un risque d'évoluer vers une cirrhose et/ou un carcinome hépatocellulaire.

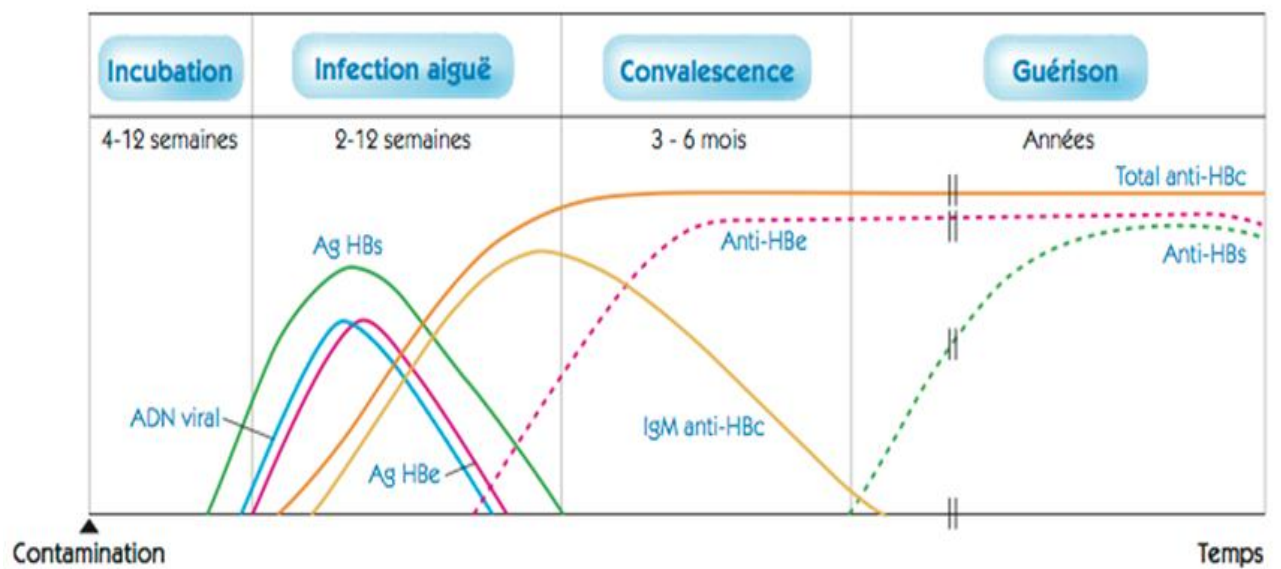
La proportion de cas symptomatiques de l'hépatite aiguë B augmente avec l'âge alors que le risque de passage à une infection chronique diminue.

En effet, lorsque l'infection par le virus de l'hépatite B a lieu à la naissance ou durant la petite enfance, l'infection entraîne en règle générale une hépatite aiguë asymptomatique. Cependant celle-ci est associée à un risque plus élevé d'évolution vers une infection chronique (de 90 % à la naissance à 30 % à 4 ans).

Inversement, lorsqu'elle a lieu après 5 ans, l'infection par le virus de l'hépatite B peut entraîner une hépatite aiguë symptomatique (30 % à 50 % des cas) et est associée à un risque faible d'évolution vers une infection chronique (5 % à 10 %).

Le diagnostic est affirmé par la présence de l'antigène HBs. L'anticorps anti-HBc type IgM est présent dans l'hépatite aiguë B mais peut l'être aussi au cours des réactivations. Cependant, la présence lors d'une symptomatologie d'hépatite aiguë d'AgHBs et d'Ac anti-HBc signe le diagnostic d'hépatite aiguë B.

Figure 4 : Evolution des marqueurs sérologiques en cours infection aigüe avec guérison spontanée par le virus de l'hépatite B



Source : <http://www.hepatoweb.com/hepatite-B-infection>.

Consulté le 20/10/2014

3) L'hépatite chronique B

a. Définition

L'infection chronique par le virus de l'hépatite B (VHB) est en règle générale initialement asymptomatique. Les premiers symptômes apparaissent souvent uniquement quand les patients sont au stade de cirrhose décompensée. Cela rend plus difficile le dépistage et les patients ne sont diagnostiqués que tardivement. Ils sont pris en charge que lorsque l'infection est déjà bien évoluée ou compliquée (première complication d'une cirrhose par exemple).

La définition de l'infection chronique par le virus de l'hépatite B est la persistance d'un antigène HBs (AgHBs) positif pendant plus de 6 mois.

Parmi les porteurs chroniques du VHB, on distingue deux situations :

- les patients porteurs inactifs de l'Ag HBs,
- les patients atteints d'une hépatite B chronique.

Dans le cas d'un portage chronique inactif, les transaminases sont normales et l'ADN du VHB est présent en faible quantité (moins de 2 000 UI/mL).

Dans l'hépatite chronique B, les transaminases sont élevées et l'ADN VHB est présent en grande quantité.

Le pronostic est différent entre ces deux situations. Il est bon dans le premier cas avec un risque faible de développement de lésions du foie, et en particulier de survenue d'une cirrhose ou d'un CHC. Inversement, dans le deuxième cas, il existe un risque élevé de développement de lésions évolutives du foie avec un risque de cirrhose puis de complications et de CHC.

L'hépatite chronique B se peut présenter soit avec un antigène HBe positif soit avec un antigène HBe négatif.

L'hépatite chronique B avec antigène HBe positif est due à l'infection par le virus de l'hépatite B dit sauvage. Elle représente la phase précoce de l'infection par le VHB. L'hépatite chronique B avec antigène HBe négatif est liée à la réplication de variants naturels du VHB qui portent des substitutions nucléotidiques dans les régions pré-C et/ou du promoteur C du génome viral. Cette forme représente une phase plus tardive de l'infection chronique par le VHB. La prévalence des formes d'hépatite antigène HBe négatif a augmenté au cours de la dernière décennie, du fait d'un vieillissement de la population infectée par le VHB. Ces formes représentent la majorité des cas dans de nombreuses régions, y compris l'Europe.

En France, la proportion de malades atteints d'hépatite chronique Ag HBe négatif augmente : d'après les dernières données démographiques, 70% des patients porteurs d'une hépatite B chronique sont Ag HBe négatifs.

b. Les différentes phases de l'hépatite chronique B [2]

Schématiquement, l'hépatite chronique B est caractérisée par plusieurs phases

i. Phase de tolérance immunitaire

Une première phase dite de « tolérance immunitaire » ou d'immunotolérance. Elle est caractérisée par la positivité de l'antigène HBe. Il y a une forte réplication virale (grande quantité d'ADN VHB détectable dans le sérum) mais avec une faible activité de l'hépatite chronique. C'est-à-dire que les transaminases vont rester normales ou peu élevées et les lésions histologiques hépatiques de nécrose et/ou d'inflammation vont être absentes ou minimales. Il y aura donc une progression de la fibrose lente voire nulle.

Durant cette phase, le taux d'élimination spontanée de l'antigène Hbe est très faible.

Cette première phase est plus fréquente et plus prolongée chez des sujets infectés durant la période néonatale ou dans les premières années de la vie.

À cause de la forte virémie, ces malades sont très contagieux.

ii. Phase de « réaction immunitaire »

Une deuxième phase dite de « réaction immunitaire » comporte une réplication virale plus modérée (quantité plus modérée de l'ADN VHB dans le sérum). Il y a également une plus forte activité de l'hépatite chronique. Les transaminases sont élevées soit de manière permanente soit de manière fluctuante. Les lésions histologiques vont être plus marquées. L'activité nécrotico-inflammatoire hépatique est modérée à sévère et il existe une progression plus rapide de la fibrose hépatique par rapport à la phase précédente. L'Antigène HBe reste positif dans cette phase.

Cette phase peut durer de plusieurs semaines à plusieurs années.

Le taux d'élimination spontanée de l'antigène HBe est augmenté. Elle survient après plusieurs années d'immunotolérance et est présente plus fréquemment chez les sujets infectés à l'âge adulte.

iii. Phase de portage inactif du VHB

La phase de portage inactif du VHB peut suivre une séroconversion antigène – anticorps HBe. Elle est caractérisée par une charge virale très basse, voire indétectable et une activité normale des transaminases.

Cet état a un pronostic favorable à long terme avec un très faible risque de cirrhose et de carcinome hépatocellulaire chez la majorité des malades.

La perte de l'antigène Hbs et la séroconversion avec anticorps anti-Hbs peuvent survenir spontanément dans 1 à 3 % des cas par an. Habituellement cette perte survient après plusieurs années d'indétectabilité de l'ADN du VHB.

iv. Hépatite chronique B antigène HBe négatif

L'hépatite chronique B antigène HBe négatif suit la séroconversion de l'antigène HBe à l'anticorps anti-HBe durant la phase de réactivité immune. Il s'agit d'une phase plus tardive dans l'histoire naturelle de l'hépatite chronique B.

Elle est caractérisée par des périodes de réactivation avec des taux fluctuants de la charge virale du VHB et des transaminases et une hépatite chronique active.

Ces malades sont antigène HBe négatif et ont des variants du VHB avec des substitutions nucléotidiques au niveau de la région pré-C et/ou du promoteur de la région C du génome viral.

Ces variants sont incapables d'exprimer, ou expriment à très faible niveau, l'antigène HBe. L'hépatite chronique B antigène HBe négatif a un faible taux de rémission spontanée.

Ces malades ont une maladie hépatique active avec un haut risque de progression vers une fibrose hépatique sévère ou vers une cirrhose. Des complications telles que des décompensations de cirrhose ou le développement de carcinome hépatocellulaire peuvent survenir lors de cette phase.

v. Phase antigène HBs négatif

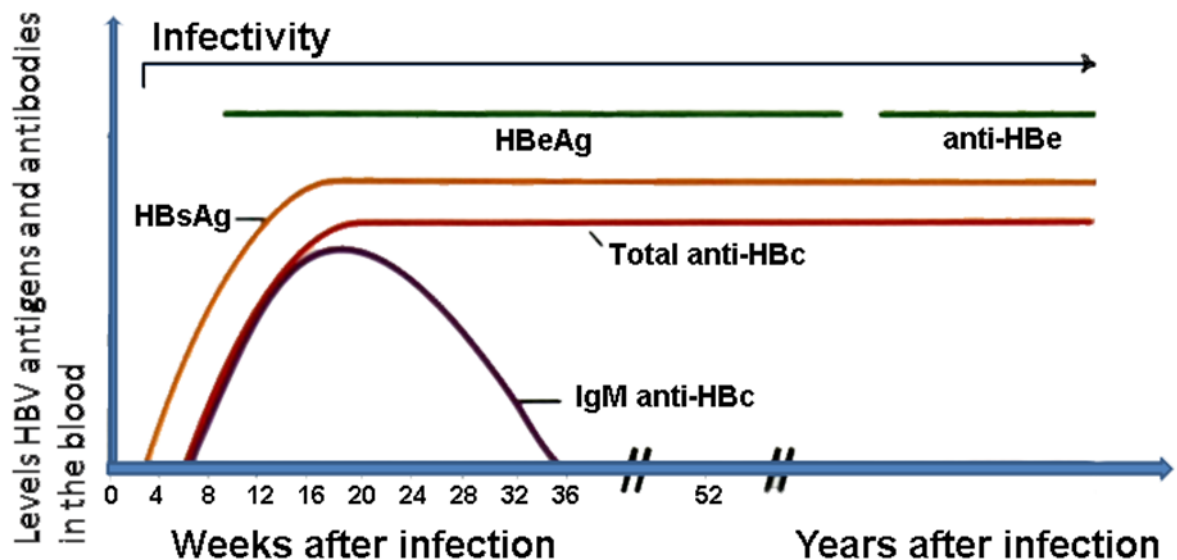
Durant la phase antigène HBs négatif après perte de l'antigène Hbs, un faible niveau de réplication du VHB peut persister avec un ADN du VHB détectable dans le foie. Ce sont des formes superenroulées de l'ADN du VHB dans le noyau des hépatocytes infectés. Cela explique que l'infection par le VHB ne peut être complètement éradiquée.

L'ADN du VHB n'est plus détectable dans le sérum. Les patients présentent des anticorps anti-HBc avec ou sans anticorps anti-HBs positifs.

La perte de l'antigène HBs est associée à une amélioration du devenir de ces malades avec une réduction du risque de développement d'une cirrhose, de décompensation de la maladie hépatique et de carcinome hépatocellulaire.

La disparition spontanée de l'Ag HBs est rare et tardive (incidence d'environ 1 % par an).

Figure 5 : Evolution des marqueurs sérologiques en cours infection chronique par le VHB



Source http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Chronic_HBV_v2.png?uselang=fr

Consulté le 20/10/2014

c. Complications

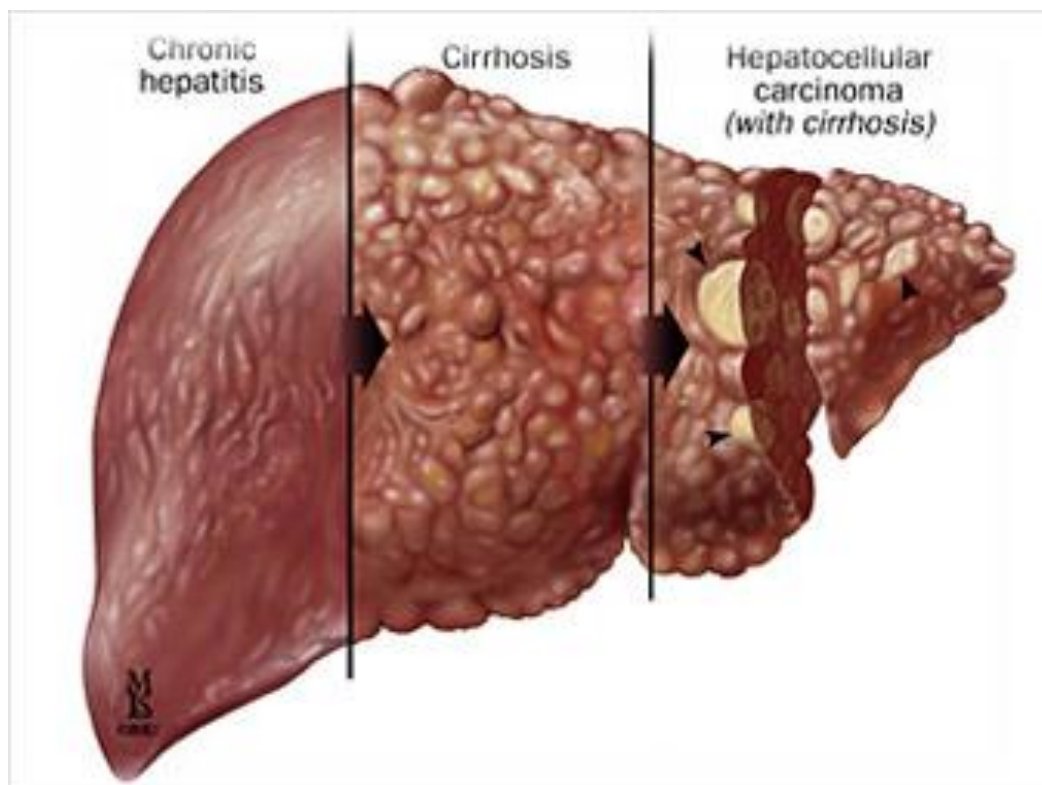
La morbidité et la mortalité de l'hépatite chronique B vont être liées à la persistance de la réplication virale et à l'évolution de la maladie hépatique vers la cirrhose et le carcinome hépatocellulaire.

- Les études longitudinales chez des malades atteints d'hépatite chronique B montrent que l'incidence cumulative de la cirrhose cinq ans après le diagnostic se situe entre 8 à 20 %.

- L'incidence cumulative de décompensation hépatique cinq ans après est approximativement de 20 % avec une probabilité de survie à cinq ans aux alentours de 80 à 86 % chez des malades ayant une cirrhose compensée.

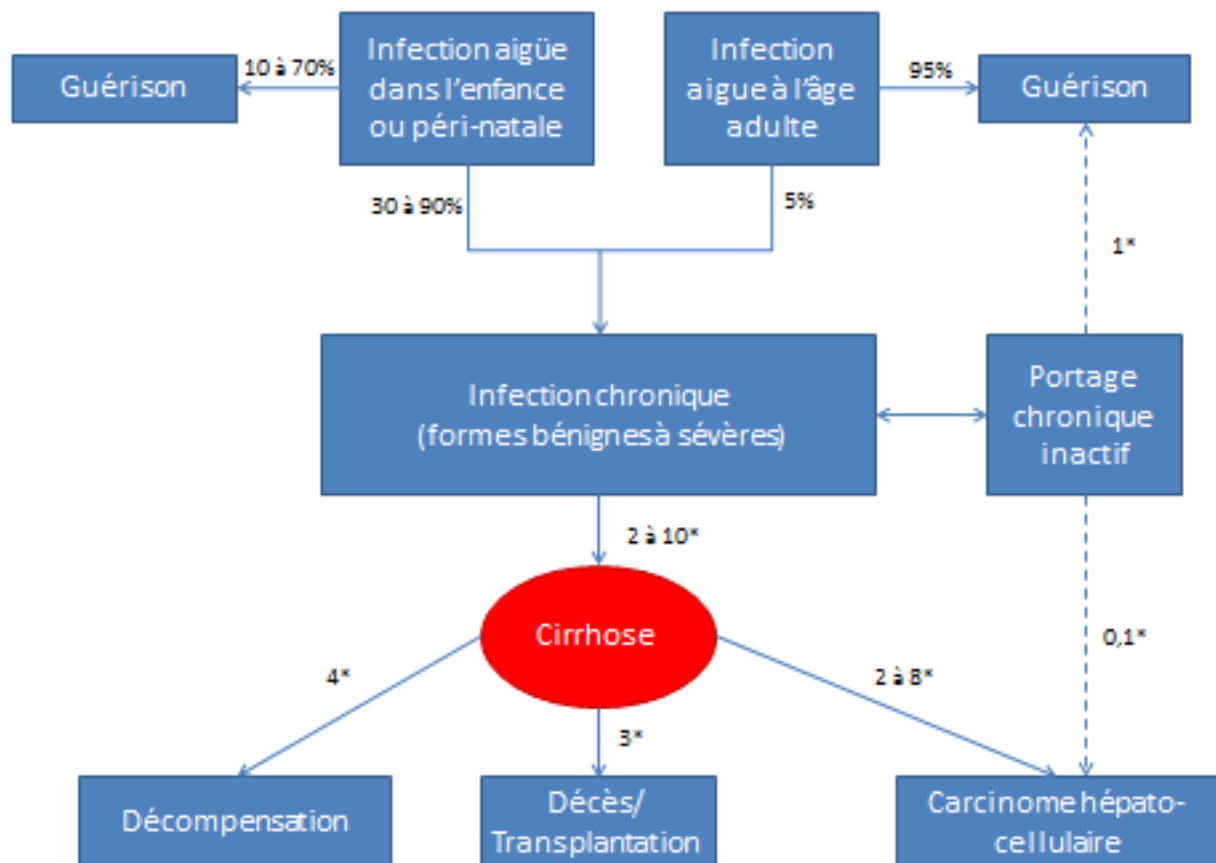
- Les patients avec une cirrhose décompensée ont un mauvais pronostic, avec une probabilité de survie à cinq ans oscillant entre 14 et 35 %.

Figure 6 : Evolution de la fibrose hépatique



Source : <http://www.depistagemts.com/hepatite.php>
Copyright © 2012, Créa-MeD | , consulté le 20/10/2014

Figure 7 : Diagramme sur l'évolution clinique lors des infections par le virus de l'hépatite B



* Incidence pour 100 personnes années (Source EASL Clinical Practice Guidelines: Management of chronic HBV infection 2012)

Source <http://www.hepatoweb.com/hepatite-B-infection.php>

Consulté le 20/10/2014

EASL, Clinical Practice Guidelines 2012

4) Prise en charge thérapeutique

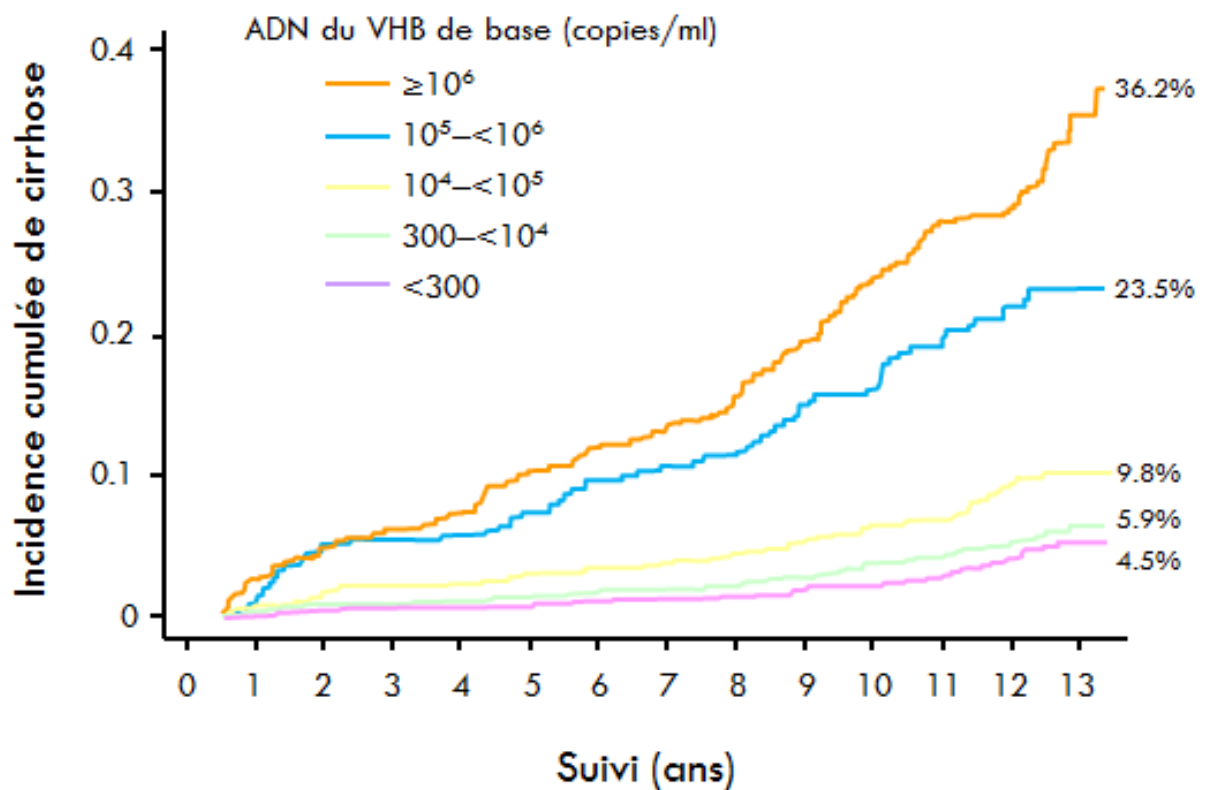
a. Intérêts du traitement de l'hépatite chronique B

L'objectif du traitement va être de diminuer la réplication du VHB afin de diminuer l'activité de l'hépatite chronique B et ainsi de prévenir la progression de la fibrose.

La réduction parallèle de l'activité histologique de l'hépatite chronique diminue le risque de cirrhose et de carcinome hépatocellulaire chez les malades non cirrhotiques et chez les patients cirrhotiques.

i. L'hépatite B et le risque évolutif de cirrhose

Figure 8 : Impact de la virémie élevée sur l'évolution vers une cirrhose :



Iloeje UH et al. Gastroenterology 2006 [8]

Dans une étude publiée dans Gastroenterology en 2006, il a été décrit une cohorte REVEAL-HBV (Risk Evaluation of Viral Load Elevation and Associated Liver disease/cancer-Hepatitis B Virus) de patients atteints d'une hépatite B chronique. 3 653 patients porteurs de l'AgHBs et négatifs pour le VHC dans 7 centres à Taïwan entre 1991 et 1992 ont été inclus. Les patients ont été suivis en prospective jusqu'en juin 2004.

L'incidence de la cirrhose et du carcinome hépatocellulaire ont été recueillies pendant cette période ainsi que les données démographiques et virologiques.

Cette première courbe (figure 8) représente la très bonne corrélation entre le niveau de réplication virale et l'évolution cirrhogène. Un ADN du VHB élevé à l'inclusion dans la cohorte était associé à un risque plus élevé d'apparition d'une cirrhose au cours du suivi. ($p < 0.001$).

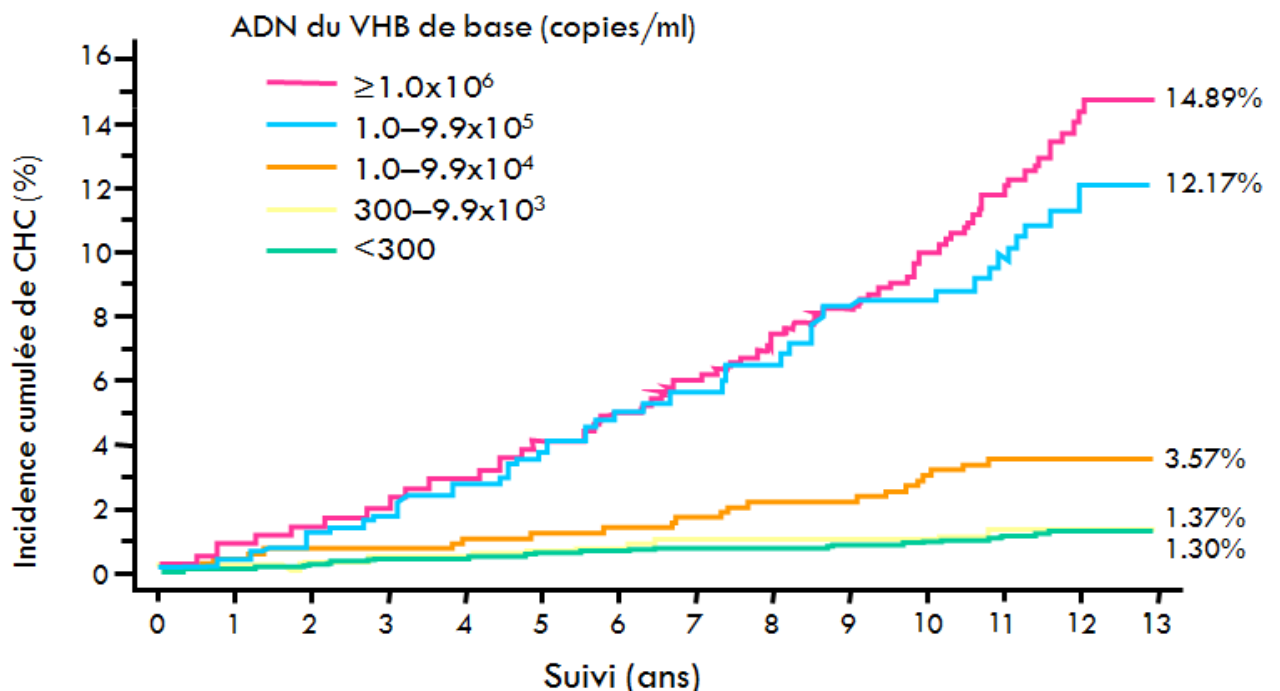
ii. Hépatocarcinogenèse virale B

Il existe 2 types de carcinogenèse virale.

Une carcinogenèse indirecte qui est la plus fréquente et qui passe par l'intermédiaire de la cirrhose.

Une carcinogenèse directe qui passe essentiellement d'une part par l'intégration au hasard dans le génome de l'hôte au niveau d'un gène impliqué par exemple dans la multiplication cellulaire et d'autre part, par l'activité transactivationnelle de protéines d'information virale comme la protéine X.

Figure 9 : Impact de la virémie élevée sur le risque de carcinome - hépatocellulaire :



Chen CJ, et al. JAMA 2006; 295: 65-73 [9]

Cette courbe extraite également de la cohorte REVEAL-HBV mais dans le cadre d'une autre étude montre l'incidence cumulée de la survenue d'un carcinome-hépatocellulaire en fonction de la charge virale. Une charge virale élevée est statistiquement associée à un risque plus élevé de CHC ($p < 0.001$).

Pour diminuer le risque d'évolution vers la cirrhose ou le CHC, il faut que la réplication du VHB soit réprimée de manière soutenue et durable.

b. Bilan pré-thérapeutique

Tous les malades atteints d'hépatite chronique B n'ont pas une élévation persistante des transaminases. Les malades en phase d'immunotolérance ont une activité normale de l'ALAT de manière persistante. De plus des malades atteints d'hépatite chronique B antigène HBe négatif peuvent également avoir un taux de l'ALAT normal de manière intermittente.

Ainsi, il faut parfois réaliser plusieurs dosages pour s'assurer la négativité de la charge virale B et distinguer les patients immuno-tolérants des malades avec une hépatite chronique B antigène HBe négatif.

Un bilan sérologique complet doit être réalisé pour orienter le diagnostic. Il faut faire une recherche antigène HBs, Antigène Hbe, Anticorps anti-Hbc, anticorps anti-HBe, anticorps anti-HBs.

Figure 10 : Marqueurs biologiques du virus de l'hépatite B

Résultats des Marqueurs biologiques du virus de l'hépatite B			Interprétation
Ag HBs -	Anti-HBc -	Anti-HBs -	Pas d'infection par le VHB : personne à vacciner en fonction de l'âge et des facteurs de risque
	Anti-HBc -	Anti-HBs +	Personne vaccinée
	Anti-HBc +	Anti-HBs +	Personne guérie
	Anti-HBc + IgM anti-HBc +	Anti-HBs -	Infection aiguë en voie de guérison : phase "fenêtre" : l'Ag HBs a disparu, l'Ac anti-HBs n'est pas encore apparu
	Anti-HBc + IgM anti-HBc -	Anti-HBs -	Infection ancienne et guérie à la suite de laquelle l'Ac anti-HBs a fini par disparaître
Ag HBs +	Anti-HBc + IgM anti-HBc +	Anti-HBs -	Infection aiguë ou réactivation chez un porteur chronique de l'Ag HBs
	Anti-HBc + IgM anti-HBc -	Anti-HBs -	Porteur chronique ou hépatite chronique B (Ag HBs + depuis plus de 6 mois)
Ag HBs + (> 6 mois)	ADN viral + (> 10 ⁵ copies/ml)	Ag HBe + Anti-HBe -	Phase répliquative d'une hépatite chronique B Ag HBe positif
	ADN viral + (> 10 ⁵ copies/ml)	Ag HBe - Anti-HBe + (Transaminases élevées)	Phase répliquative d'une hépatite chronique B Ag HBe négatif (virus mutant)
	ADN viral - (< 10 ⁵ copies/ml)	Ag HBe - Anti-HBe + (Transaminases normales)	Porteur inactif de l'Ag HBs

Source <http://www.hepatoweb.com/hepatite-B-infection.php>

Consulté le 20/10/2014

Un bilan biologique complet standard doit être également réalisé avec dosages des marqueurs biochimiques comme le dosage des transaminases (ASAT et ALAT), les

marqueurs de cholestase hépatique : la gamma-glutamyl transpeptidase (GGT), les phosphatases alcalines (PAL).

On dose également le taux de prothrombine et l'albuminémie ; la numération de formule sanguine.

Habituellement au début de l'infection, l'activité de l'ALAT est plus élevée que celle de l'ASAT. Ce ratio peut s'inverser lorsqu'on est au stade de cirrhose.

Une diminution progressive de l'albuminémie et une augmentation du taux de prothrombine, souvent accompagnées par une baisse des plaquettes, sont typiquement observées après le développement d'une cirrhose.

Il est important également de dépister les comorbidités qui pourraient jouer sur la prise en charge du patient. Il faut faire un dépistage du VHD, du VHC et du VIH.

Un bilan d'imagerie avec une échographie abdominale est nécessaire à la recherche de signes de cirrhose et dans le cadre du dépistage du carcinome hépatocellulaire. En cas de signes de cirrhose, une fibroscopie gastrique sera réalisée pour le dépistage de signes d'hypertension portale (varices-œsophagiennes...).

Pour la mesure de la charge virale, elle se fait par des tests quantitatifs par PCR en temps réel. Les niveaux sériques d'ADN du VHB sont exprimés en UI/mL. Le seuil de détection est 20 UI/ml sur le plasma. Cette mesure est essentielle pour le diagnostic et la décision de traiter, ainsi que pour la surveillance de ces malades.

Une évaluation de la fibrose hépatique est nécessaire pour déterminer la sévérité des lésions. C'est également un paramètre important pour la décision de traitement ou non. Le principal moyen d'évaluation de cette fibrose est la réalisation d'une ponction biopsie hépatique. Elle permet de coter la fibrose selon des scores d'évaluation. [9]

Un traitement antiviral est indiqué chez les malades ayant une fibrose modérée ou sévère et/ou une activité modérée ou sévère. Ainsi, si l'on utilise le score Métavir, le traitement est recommandé chez les patients ayant un score d'activité d'au moins A2 et/ou un score de fibrose d'au moins F2

La biopsie hépatique n'est habituellement pas nécessaire chez les malades qui ont une cirrhose cliniquement évidente, ou chez ceux dont l'indication de traitement ne dépend pas de la sévérité de l'activité ou de la fibrose hépatique.

Le score Métavir apprécie deux éléments : l'activité et la fibrose.

L'activité est classée en grade de A0 à A3 (sans activité à activité sévère).

La fibrose est classée en stade de F0 à F4 (de l'absence de fibrose au stade 4 qui correspond au stade de cirrhose).

L'évaluation de la fibrose par des marqueurs non invasifs n'est pas encore validée chez les patients avec une hépatite B positive.

Les marqueurs peuvent être soit les marqueurs sériques (FibroTest®) ou l'élastométrie hépatique (FibroScan®). Cela peut être un complément pour l'évaluation de la fibrose ou pour éviter la biopsie du foie. En effet, chez les patients ayant des enzymes hépatiques normales et un ADN du VHB < 20 000 UI/mL, la probabilité de fibrose significative est très faible (inférieur à 10%). Dans ce contexte de prévalence très faible, la Valeur prédictive négative sera excellente. C'est pour cette raison que l'EASL recommande d'utiliser un test non invasif pour s'assurer de l'absence de fibrose chez ces patients. [1 ; 2 ; 11]

c) Indications de traitement selon les recommandations internationales [1]

Elles reposent sur la combinaison de trois critères :

- les taux d'ADN du VHB,
- les taux d'ALAT
- la sévérité de la maladie hépatique.

Les patients avec un Ag HBe négatif et des ALAT constamment normales (déterminées tous les 3 mois pendant au moins 1 an) et des taux d'ADN du VHB entre 2000 UI/ml et 20 000 UI/ml, sans maladie hépatique évidente, ne nécessitent ni biopsie hépatique immédiate ni traitement. L'évaluation de la sévérité de la fibrose par des méthodes non invasives pourrait être utile dans ces cas-là. Un suivi régulier des taux d'ALAT (tous les 3 mois) et des taux d'ADN du VHB (tous les 6 mois) pendant au moins trois ans est recommandé. Après trois ans, ils doivent être suivis à vie comme des porteurs chroniques inactifs.

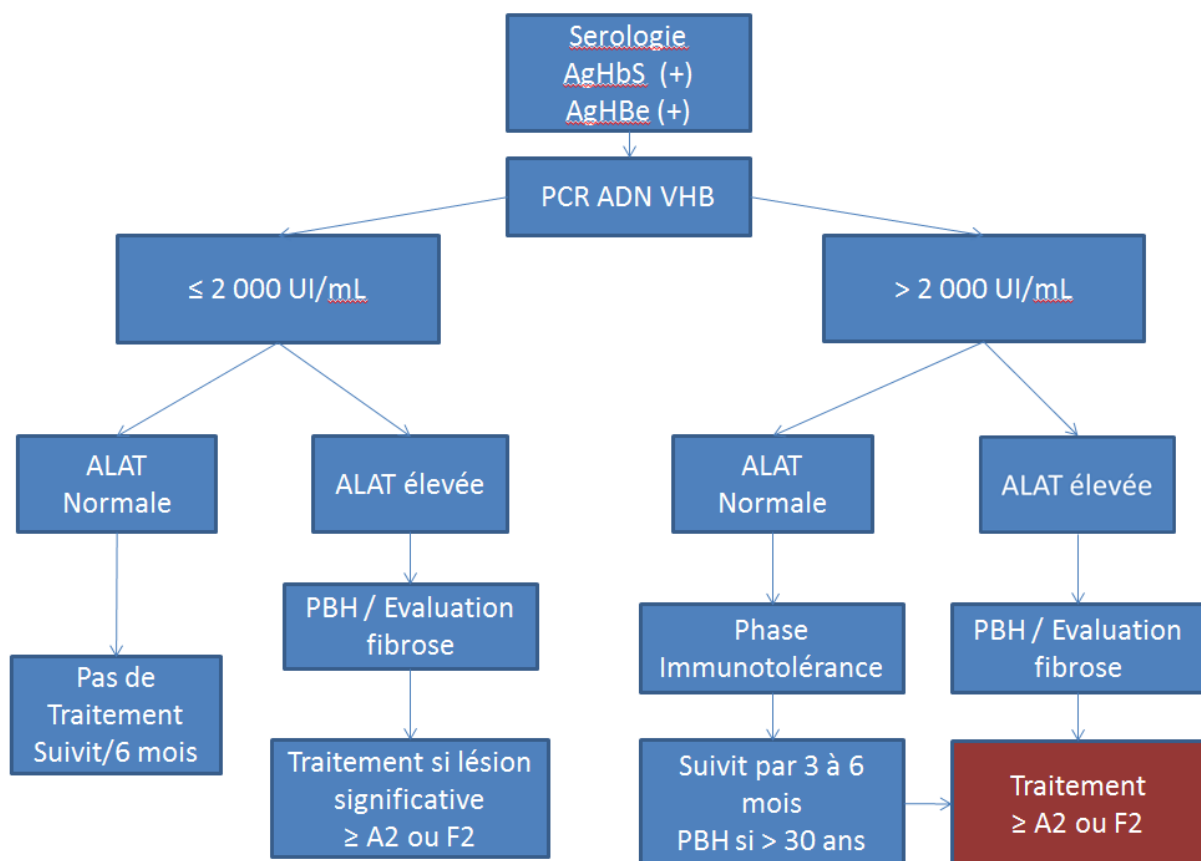
Les patients avec hépatite B chronique active, Ag HBe positif ou négatif, avec des ALAT à plus de deux fois la normale et un taux d'ADN à plus de 20 000 UI/ml pourraient commencer le traitement sans biopsie hépatique. Une méthode non invasive pour estimer le degré de fibrose, et plus important, pour affirmer ou infirmer le diagnostic de cirrhose, est très utile chez les patients qui débutent le traitement sans biopsie.

Les patients qui ont une cirrhose compensée ou décompensée et un ADN détectable doivent être traités par analogues nucléosidiques ou nucléotidiques, même si les ALAT sont normales.

Une amélioration clinique significative est associée au contrôle de la réplication virale chez les patients ayant une cirrhose décompensée qui doivent être traités en urgence.

Les cirrhotiques porteurs de l'Ag HBs et n'ayant pas de virémie détectable mais ayant une activité biologique devront avoir un dépistage des comorbidités et un contrôle de celles-ci si possible (syndrome métabolique, infection au virus de l'hépatite C associée, surconsommation d'alcool).

Figure 11 : Algorithme possible de Prise en charge de l'hépatite B chronique :



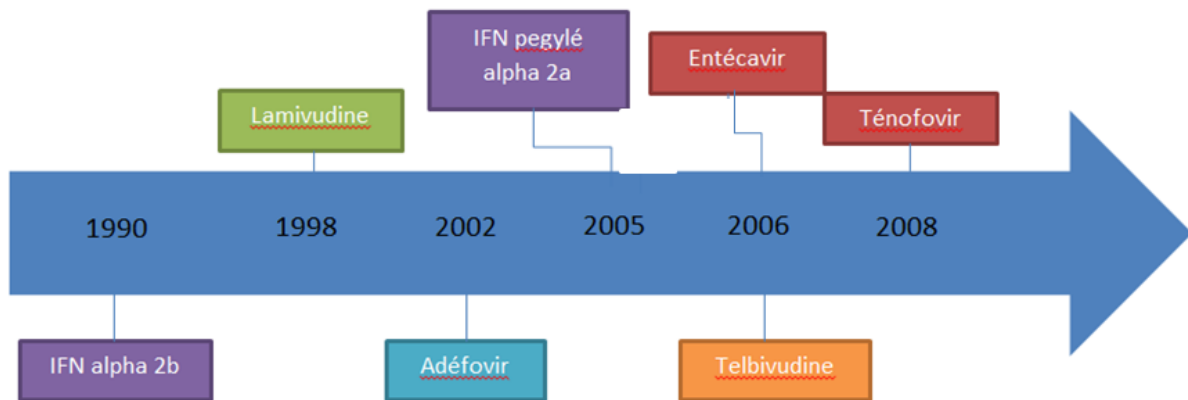
Adapté de : EASL, Clinical Practice Guidelines 2012

d) Principe du traitement

L'objectif du traitement antiviral est dans tous les cas une virosuppression de l'ADN du VHB. En effet, c'est cela qui réduira les risques viraux (résistance du virus de l'hépatite B/échappement aux traitements) et les risques hépatiques (complications de la cirrhose).

On peut distinguer deux stratégies thérapeutiques différentes dans le traitement de l'hépatite chronique B : l'interféron alpha et les analogues nucléosidiques/nucléotidiques.

Figure 12 : Évolution de l'hépatite B chronique sur deux décennies



Adapté de : M.-A. Petit, C. Trépo. Virologie de l'hépatite B. EMC Hépatologie 2014;9(2):1-18 [Article 7-015-B-30]

La première stratégie possible est un traitement de durée limitée. Le but est d'obtenir une réponse virologique prolongée après la fin du traitement : c'est la stratégie proposée avec l'interféron pégylé qui a deux mécanismes d'action : un effet antiviral et un effet immuno-modulateur.

Les avantages de l'interféron pégylé sont l'absence de résistance, une opportunité de réponse virologique prolongée sans traitement, une chance de perte de l'Ag HBs chez les patients qui ont et gardent un ADN indétectable. Mais ses inconvénients incluent les effets secondaires, le mode d'administration du produit (injection sous-cutanée) et l'existence de contre-indications au traitement (les maladies auto-immunes associées, les terrains psychiatriques de dépression sévère ou de psychose et la grossesse). De plus ce type de traitement n'est pas recommandé chez les cirrhotiques.

La seconde stratégie est d'administrer un traitement de longue durée afin d'obtenir une réponse maintenue, c'est la stratégie utilisée avec les analogues nucléosidiques ou nucléotidiques qui ont un seul mécanisme d'action : un effet antiviral sans effet immuno-modulateur.

Les avantages des analogues sont représentés par leur efficacité antivirale, leur bonne tolérance et leur voie d'administration orale.

Les inconvénients sont la durée indéfinie de traitement, un risque de résistance et une tolérance à long terme inconnue.

Les analogues nucléosidiques sont les l-nucléosides dont fait partie la Lamivudine, les analogues de la déoxyguanosine (entécavir) et les nucléosides acycliques phosphonates (adéfovir et ténofovir). Ils ont été développés pour la plupart aux débuts des années 2000.

L'efficacité de ces médicaments a été évaluée dans des essais contrôlés randomisés sur un an. Les résultats à long terme (jusqu'à cinq ans) sont disponibles pour la lamivudine, l'adéfovir, l'entécavir, la telbivudine et le ténofovir chez des sous-groupes de malades. Ces résultats sont consultables dans les Guidelines de l'EASL sur la prise en charge de l'hépatite B chronique [1].

i. Résultat à un an de traitement pour les patients AgHBe positif :

Tableau 1 : Résultats des principales études dans le traitement de l'hépatite B chronique chez les patients AgHBe positif

Table 2. Results of main studies for the treatment of HBeAg-positive chronic hepatitis B at 6 months following 12 months (48 or 52 weeks) of pegylated interferon alpha (PEG-IFN) and at 12 months (48 or 52 weeks) of nucleos(t)ide analogue therapy.

	PEG-IFN		Nucleoside analogues			Nucleotide analogues	
	PEG-IFN-2a	PEG-IFN-2b	Lamivudine	Telbivudine	Entecavir	Adefovir	Tenofovir
Dose*	180 µg	100 µg	100 mg	600 mg	0.5 mg	10 mg	245 mg
[Ref.]	[63]	[64]	[63, 65-68]	[68]	[67]	[69, 70]	[70]
Anti-HBe seroconversion (%)	32	29	16-18	22	21	12-18	21
HBV DNA <60-80 IU/ml (%)	14	7	36-44	60	67	13-21	76
ALT normalisation# (%)	41	32	41-72	77	68	48-54	68
HBsAg loss (%)	3	7	0-1	0.5	2	0	3

*PEG-IFN were given as percutaneous injections once weekly and nucleos(t)ide analogues as oral tablets once daily.

#The definition of ALT normalisation varied among different trials (i.e. decrease of ALT to ≤ 1.25 -times the upper limit of normal (ULN) in the entecavir or ≤ 1.3 -times the ULN in the telbivudine trial).

EASL, Clinical Practice Guidelines 2012 [1 ; 12 ; 13 ; 14 ; 15 ; 16 ; 17 ;18]

Chez les patients Ag HBe positif, les taux de séroconversion anti-HBe et de perte de l'Ag HBs sont respectivement, après 12 mois de traitement par analogues, de 20 % et de 0 à 3% selon les molécules utilisées (0 % avec l'adéfovir, 0,5 % avec la telbivudine, 1 % avec la lamivudine, 2 % avec l'entécavir et 3 % avec le ténofovir).

Le taux de séroconversion anti-HBe augmente au cours du temps en poursuivant le traitement par des analogues.

Les taux de réponse virologique (ADN indétectable) sont supérieurs à 90 % après 3 à 5 ans de traitement prolongé par entécavir ou ténofovir.

ii. Résultat à un an de traitement pour les patients AgHBe négatif :

Tableau 2 : Résultat à un an de traitement pour les patients AgHBe négatif :

Table 3. Results of main studies for the treatment of HBeAg-negative chronic hepatitis B at 6 months following 12 months (48 weeks) of pegylated interferon alpha (PEG-IFN) and at 12 months (48 or 52 weeks) of nucleos(t)ide analogue therapy.

	PEG-IFN	Nucleoside analogues			Nucleotide analogues	
	PEG-IFN-2a	Lamivudine	Telbivudine	Entecavir	Adefovir	Tenofovir
Dose*	180 µg	100 mg	600 mg	0.5 mg	10 mg	245 mg
[Ref.]	[91]	[68, 90-92]	[68]	[92]	[70, 93]	[70]
HBV DNA <60-80 IU/ml (%)	19	72-73	88	90	51-63	93
ALT normalisation [#] (%)	59	71-79	74	78	72-77	76
HBsAg loss (%)	4	0	0	0	0	0

*PEG-IFN-2a was given as percutaneous injections once weekly and nucleos(t)ide analogues as oral tablets once daily.

[#]The definition of ALT normalisation varied among different trials (i.e. decrease of ALT to ≤1.25-times the upper limit of normal (ULN) in the entecavir or ≤1.3-times the ULN in the telbivudine trial).

EASL, Clinical Practice Guidelines 2012 [1 ; 14 ; 16 ; 18 ; 19 ; 20 ; 21 ; 22]

Chez les patients Ag HBe négatif, lorsque le traitement par analogues est maintenu, les taux de rémission virologique sont de plus de 95 % avec l'entécavir ou le ténofovir pris pendant 3 à 5 ans ou plus.

Les taux de perte de l'Ag HBs augmentent avec le temps. La perte de l'Ag HBs à 5 ans est de l'ordre de 10 % avec ténofovir ou entécavir chez les sujets initialement Ag HBe positif mais reste rarement observée (< 1 %) chez les sujets initialement Ag HBe négatif.

Avec ces résultats, les analogues de deuxième génération (ténofovir et entécavir) sont devenus le traitement de référence pour le traitement de l'hépatite chronique du VHB. En effet, ils semblent montrer une activité anti-VHB plus importante et un profil de résistance plus satisfaisant.

iii. Risque de résistance

Du fait de la nécessité d'un traitement au long cours par analogues, il y a des risques de développement d'une résistance avec un phénomène d'« échappement ». Ce risque semble moins important avec les analogues de deuxième génération.

Figure 13: Incidence cumulative des résistances en fonction du temps et du type de traitement

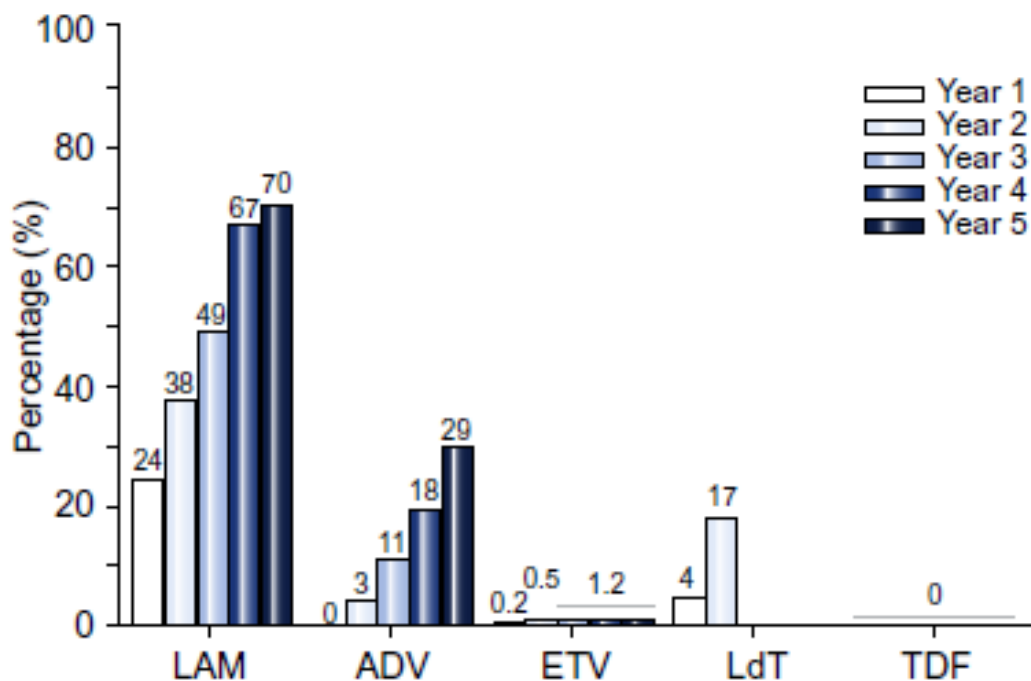


Fig. 1. Cumulative incidence of HBV resistance to lamivudine (LAM), adefovir (ADV), entecavir (ETV), telbivudine (LdT) and tenofovir (TDF) in pivotal trials in nucleos(t)ide-naïve patients with chronic hepatitis B. For method of calculation, see Ref. [41]. These trials included different populations, used different inclusion and exclusion criteria and different follow-up end points.

EASL, Clinical Practice Guidelines 2012 [1]

Le taux de résistance est très bas pour l'entécavir et nulle pour le ténofovir pour le moment. Cela contraste avec la lamivudine qui a un fort taux de résistance au cours du traitement (près de 70% après 5 ans de traitement).

Devant la nécessité d'un traitement prolongé par analogues, il faut donc choisir les molécules au meilleur profil de résistance c'est-à-dire ténofovir ou entécavir.

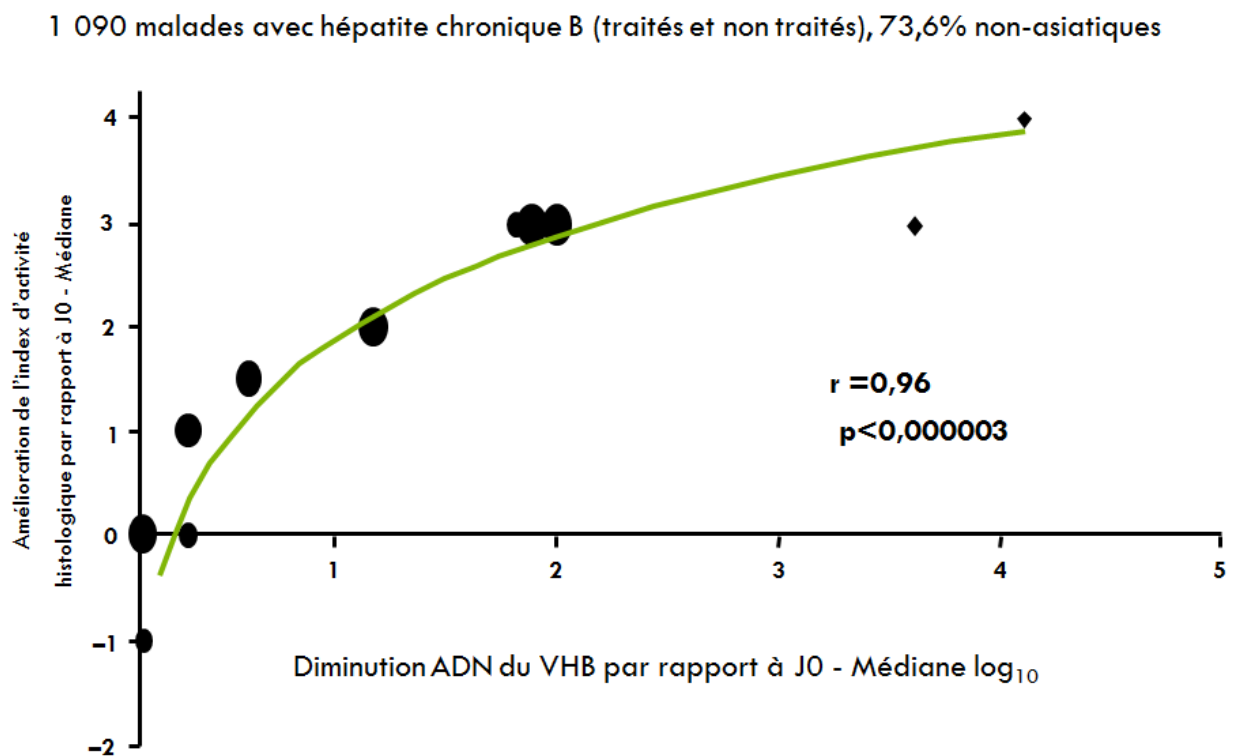
iv. Bénéfices associés à la virosuppression

Les maladies hépatiques actives et fibrosantes justifient un traitement afin d'obtenir une virosuppression optimale.

Elle seule permet la réduction significative de la progression de l'hépatopathie et de la survenue du CHC.

De plus, le traitement par analogues prévient la décompensation hépatique chez les malades ayant une cirrhose compensée. Il améliore la fonction hépatique chez les malades ayant une cirrhose décompensée et il est bien toléré chez le malade ayant une cirrhose

Figure 14 : Diminution de l'ADN du VHB : impact sur l'activité histologique



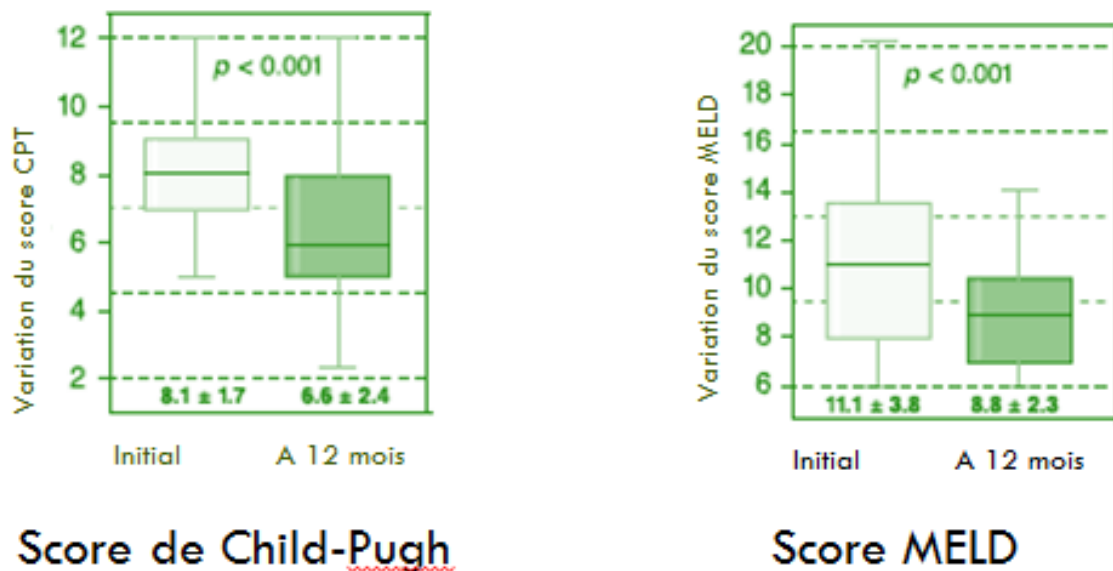
Mommeja-Marín H, et al. *Hepatology* 2003; 37: 1309-19

Dans cette méta-analyse de 26 études publiée en 2003 dans *Hepatology* [23] en prospective (3428 patients), la diminution de la charge virale était corrélée à une amélioration histologique.

Les analogues de deuxième génération ont également une action sur la fonction hépatique.

1) Bénéfice spécifique de l'entécavir

Figure 15 : Évolution clinique sous entécavir ; Shim JH et al sur l'entécavir



Shim JH et al., J Hepatol 2010; 52: 176–182) [24]

Dans cette étude ouverte, 70 patients ayant une cirrhose score Child-Pugh B ou C, naïfs de tout traitement antiviral, ont été traités par entécavir 0,5 mg/j et suivis prospectivement. Les paramètres de la fonction hépatique (bilirubinémie, TP et albuminémie) étaient significativement améliorés après 12 mois de traitement par l'entécavir.

Ainsi, de façon logique, les scores de Child et MELD étaient également améliorés.

2) Bénéfice spécifique du ténofovir

Le ténofovir est un analogue de deuxième génération puissant. Aucune résistance n'a été retrouvée pour l'instant. Il est également utilisé dans le traitement pour le VIH.

Il a été étudié en comparaison à l'entécavir (ETV) et l'association TDF/emtricitabine (FTC) chez des malades ayant une cirrhose (score Child-Pugh entre 7 et 12).

Il s'agit d'un essai randomisé en double aveugle de phase 2. Les critères d'inclusion étaient : cirrhose décompensée Child-Pugh entre 7 et 12 ; hépatite B active avec ADN du VHB >103 copies/ml. Les malades étaient stratifiés en fonction de leur score de Child-Pugh et d'une éventuelle résistance à la lamivudine.

L'essai comportait 3 groupes de traitement : entécavir (ETV) n=22 (0,5 ou 1 mg/j) ; ténofovir (TDF) n=45 (300 mg/j) ; association TDF/emtricitabine (FTC) n=45 (200/300 mg/j).

Sur le plan de l'efficacité, dans chaque groupe, l'ADN du VHB était devenu indétectable chez plus de 70% des malades. Chez les malades résistants à la lamivudine, de façon non surprenante, le taux d'indétectabilité était inférieur aux patients du groupe ETV.

Dans chaque bras, encore une fois, on observait une amélioration de la fonction hépatique.

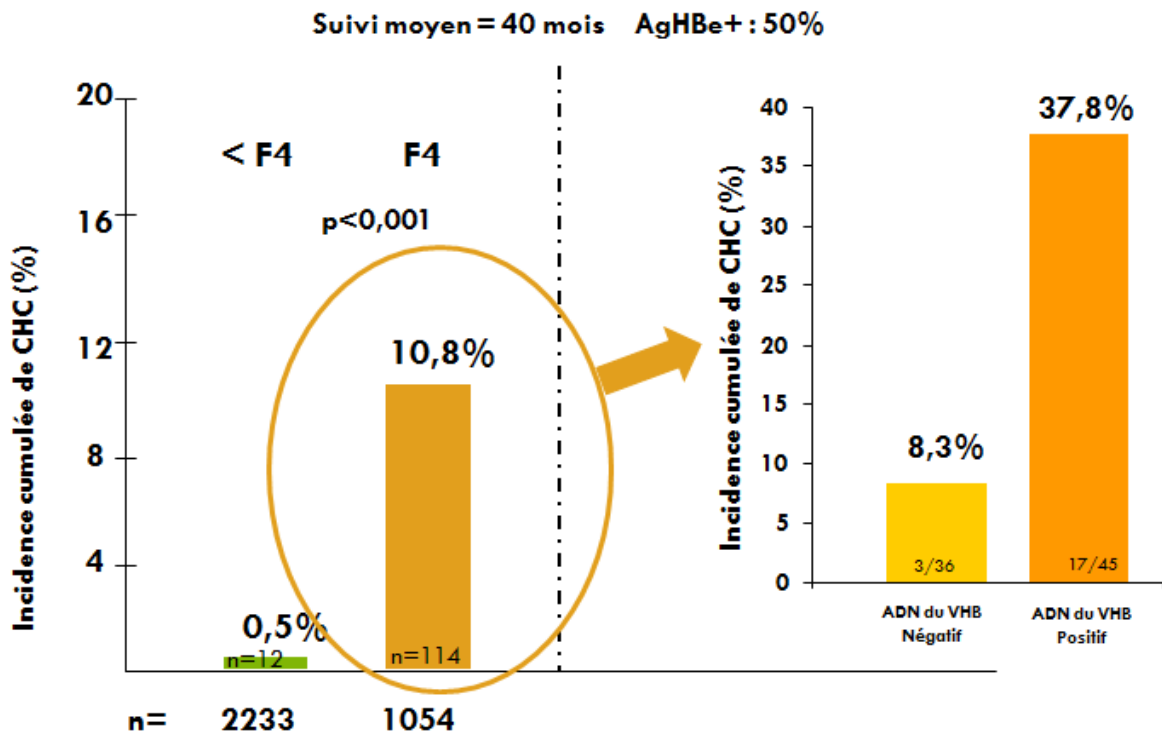
Tableau 3 : Essai randomisé Liaw *et al*

	TDF (n=45)	FTC/TDF (n=45)	ETV (n=22)
ADN du VHB indétectable, n (%)	31/44 (70,5)	36/41 (87,8)	16/22 (72,7)
Amélioration du score Child-Pugh $\geq$ 2pts, n (%)	7/27 (25,9)	12/25 (48)	5/12 (41,7)
Aggravation du score Child-Pugh $\geq$ 2pts, n (%)	0/43	1/38 (2,6)	0/22
Variations du MELD (SE)	-2,0 (-12,3)	-2,0 (-18,4)	-2,0 (-10,1)

Liaw et al., Hepatology 2011;53: 62-72 [25]

3) Bénéfice spécifique sur la survenue de carcinome hépato-cellulaire

Figure 16 : Impact du score de fibrose sur la survenue d'un CHC chez les malades traités par analogues



Papatheodoridis G, et al. J Hepatol 2010; 53: 348-356 [26]

L'incidence du CHC chez les patients traités par analogues nucléosidiques, en relation avec la présence ou non d'une cirrhose :

1/ Chez les patients naïfs de traitement traités par des analogues de deuxième génération, il est observé plus de cas de CHC dans le groupe de patients avec cirrhose (10,8%) que dans le groupe de patients sans cirrhose (0,5%), $p < 0,001$.

L'incidence cumulée de CHC était plus élevée chez les malades non virosupprimés par rapport aux malades virosupprimés, (37,8% versus 8,3%).

2/ Chez les patients traités par des analogues nucléosidiques et présentant une résistance au traitement, il est observé plus de cas de CHC dans le groupe de patients avec cirrhose (17,6%) que dans le groupe de patients sans cirrhose (0%), $p < 0,001$.

Le traitement antiviral réduit de façon significative l'incidence du CHC en comparaison aux patients sans traitement antiviral, mais le traitement n'élimine pas le risque de CHC.

f. L'observance

L'observance des traitements anti-VHB est essentielle dans le traitement de l'hépatite B du fait de la nécessité d'un traitement au long court.

L'inobservance est la cause principale d'échec virologique chez les patients traités par des analogues de deuxième génération (c'était la résistance aux traitements qui était la cause principale d'échec avec les analogues de première génération). [27] L'inobservance est également associée à une baisse de la charge virale plus lente.

Des études ont essayé d'évaluer l'observance dans le traitement de l'hépatite B.

L'évaluation de l'observance est difficile, elle peut se faire soit par des auto-questionnaires d'observance remis au patient ou soit par des dosages pharmacologiques. [30]

Figure 17 : Décroissance de la charge virale en fonction de l'observance ou non des patients au traitement

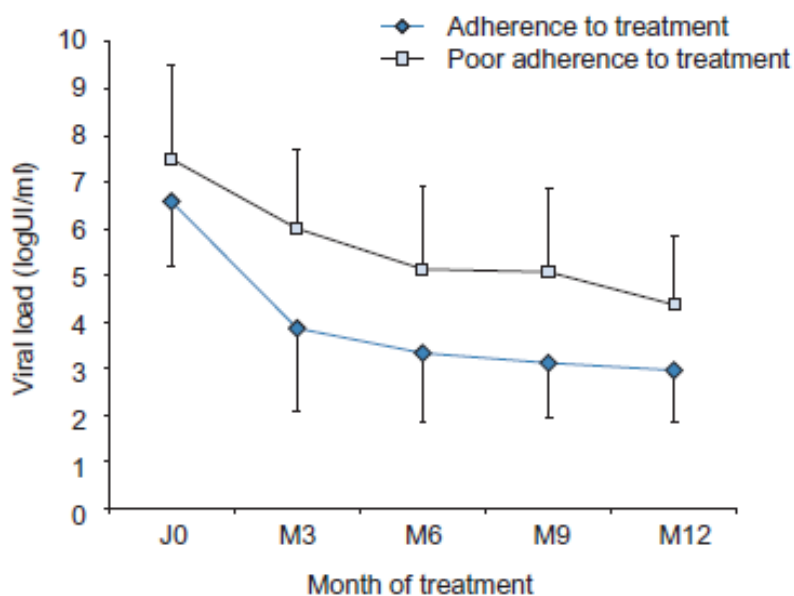


Fig. 1. Viral kinetics according to patient's adherence status.

Hilleret MN, et al. J Hepatol 2011 [29]

Ces résultats soulignent l'intérêt d'une éducation thérapeutique des patients (nécessité d'une observance satisfaisante pour éviter une perte de chance par rechute ou échappement virologique).

Les blips

1) Introduction

Les blips sont des charges virales transitoires positives chez des patients traités par analogues nucléosid/tiques qui avaient eu précédemment une charge virale négative.

Ils ont été décrits initialement dans le suivi du VIH. En effet, ces blips ont été observés chez les patients en cours de traitement par une tri-thérapie antivirale. Certains patients avaient une charge virale transitoirement positive.

Ce phénomène était assez fréquent et plusieurs études ont été faites pour connaître la cause de ces blips.

Les principales causes mises en évidence chez les patients affectés par le VIH sont une charge virale élevée à l'initiation du traitement, un taux de cd4 bas et enfin un défaut d'observance.

Ce phénomène de blip est également observé chez les patients traités par analogue nucléosidique pour une infection d'hépatite chronique B.

Cependant ces blips, contrairement au blips lors d'un traitement contre le VIH, n'ont pas été aussi largement étudiés.

Les infectiologues qui suivent les patients co-infectés, ont cherché à comprendre les blips chez leurs patients mais on ne retrouve pas dans la littérature des informations chez les mono-infectés.

2) Sujet de l'article

C'est en partant de ce postulat et de l'absence de données bibliographiques, que nous avons décidé de faire une étude pour répondre aux questions que l'on se pose sur les blips :

- Fréquence de ces blips
- Facteurs de risque de faire un blip
- Signification de ces blips
- Conséquences de ces blips

Le traitement actuel de référence du VHB est les analogues de deuxième génération (Entecavir ou Tenofovir), nous avons donc limité notre étude à ces traitements pour être le plus pertinent possible.

a) Première phase : bibliographie

Dans un premier temps, nous avons réalisé une revue de la littérature. Nous avons récupéré des données sur l'hépatite B chronique de manière générale. Puis nous avons recherché des données sur les blips au cours de l'hépatite B. Nous n'avons pas trouvé de données sur les patients mono-infectés. Nous avons donc également fait des recherches sur les blips des patients VIH et chez les patients co-infectés VIH-VHB.

b) Deuxième phase : Base de données

Dans un deuxième temps, nous avons constitué une base de données.

J'ai repris tous les patients suivis au CHU de Grenoble dans le service d'Hépatogastro-entérologie, traités par un analogue de deuxième génération en mono ou bi-thérapie. Tous les patients mono-infectés étaient inclus quel que soit leur statut HBe ou le type de traitement reçu actuellement ou précédemment.

J'ai repris les caractéristiques personnelles des patients : date de naissance, poids, taille, IMC, origine ethnique (Europe, Asie, Afrique). La date de prise en charge au CHU a été notée, ainsi que les résultats de leur première charge virale connue, de leur statut HBe initial et le taux des enzymes hépatiques.

La plupart des patients avait eu une évaluation de leur fibrose par ponction biopsie-hépatique : les résultats pour l'activité et le résultat de la fibrose ont été renseignés.

Chez les patients avaient déjà reçu un traitement, j'ai relevé :

- la chronologie des différents traitements précédemment reçus
- Le type de traitement administré
- La réponse aux différents types de traitements
- La présence de blips sous analogues de 1^{ère} génération
- Résultat de l'élasticité hépatique par FibroScan® ?

Puis j'ai renseigné-les données à l'initiation du traitement par analogues de deuxième génération :

- Type de traitement : entécavir ou ténofovir
- Mono ou bithérapie
- Poursuite initiale d'un analogue de deuxième génération
- Charge Virale à M0
- Enzyme hépatique (ASAT et ALAT) à M0
- Résultat le plus récent de FibroScan®
- Statut HBe
- Cause du changement de traitement pour analogues de deuxième génération
- Adaptation du traitement en cours de la prise en charge.

Les données ont été notées. Elles vont du début du traitement par analogues de deuxième génération à la dernière donnée disponible (date du jour ou de la dernière donnée disponible dans le dossier).

Les charges virales, les résultats des enzymes hépatiques (ASAT, ALAT) ont été recueillis à M3, M6, M9, M12, M24; M36; M48; M50, M72, M84

Le suivi de la fibrose a été fait par mesure de fibroScan®. Le dernier résultat d'élasticité hépatique a été relevé.

Il a été également noté si les patients avaient présenté une séroconversion HBe ou HBs.

Cela a permis de mettre en évidence des blips. Toutes les charges virales supérieures à 20 et inférieures à 200 chez des patients qui avaient précédemment déjà eu une charge virale négative ont été renseignées.

Pour les patients qui ont présenté un blip, j'ai noté la charge virale des blips, les résultats des enzymes hépatiques (ALAT). Le délai de survenue par rapport au début du traitement et le délai par rapport à la première négativation de la charge virale ont également été rapporté dans la base de données.

Si le patient présentait plusieurs blips, ils ont tous été notés.

Lors des blips, les sérums conservés dans le service ont permis la réalisation de dosages pharmacologiques des analogues de deuxième génération (ETV et/ou TDF).

Pour évaluer l'observance, deux méthodes ont été utilisées :

- Méthode rétrospective : peu fiable car elle était basée uniquement sur les données des dossiers médicaux. L'évaluation du médecin n'est pas toujours très fiable et parfois cette évaluation n'est pas renseignée dans le dossier. Ces résultats sont donc peu pertinents mais l'avantage de cette méthode est que tous les patients ont pu avoir une évaluation de ce type. La faible fiabilité résulte du fait que dans les études d'observance, les médecins ont tendance à sous-estimer l'inobservance de leurs patients.
- Méthode prospective : un tiers des patients de notre base de données ont participé à une étude Adhep B. Cette étude recueille des données sur les patients suivis pour une hépatite B chronique. Une évaluation de l'observance était faite de manière prospective grâce à des dosages pharmacologiques et des questionnaires d'auto-observation. L'échelle utilisée est l'échelle de MORISKY-GREEN.

Cette échelle correspond à 6 questions posées aux patients :

1. Ce matin, avez-vous oublié de prendre vos médicaments ?
 2. Depuis la dernière consultation, avez-vous été en panne de médicaments ?
 3. Vous est-il arrivé de prendre votre traitement avec du retard par rapport à l'heure habituelle ?
 4. Vous est-il arrivé de ne pas prendre votre traitement parce que certains jours vous aviez l'impression que votre traitement vous faisait plus de mal que de bien ?
 5. Vous est-il arrivé de ne pas prendre votre traitement parce que certains jours votre mémoire vous faisait défaut ?
 6. Pensez-vous que vous avez trop de comprimés à prendre ?
- Une réponse positive correspond à 1 point
 - Si un patient a plus de 3 questions positives, il correspond à un patient non-observant.

c) 3^{ème} phase : Analyse statistique

Grâce à notre base de données, des analyses statistiques ont pu être réalisées.

Dans un premier temps un tableau des caractéristiques initiales des patients a été créé. Les patients ont été répartis en deux groupes : un groupe avec les patients qui avaient déjà reçu un traitement auparavant par un analogue nucléosidique et un groupe de patient naïfs de traitement.

Un deuxième tableau a été créé avec deux groupes de patients : un groupe de patient qui a présenté des blips et un groupe sans blips. Les facteurs de risque de présenter un blip, ont été recherchés. L'analyse statistique a été faite en univariée et en multi-variée.

Enfin, pour répondre à la question « est-ce que les blips ont des conséquences cliniques ? », nous avons comparés les deux groupes de patients (avec blip et sans blip).

d) 4^{ème} étape : Rédaction

La dernière étape est la phase de rédaction de l'article en anglais avec nos résultats.

3°) Soumission

L'abstract a été soumis à l'AFEF : acceptation en commission orale lors du dernier congrès, le 25 septembre 2014.

L'article est en cours de préparation pour soumission à la publication dans *Journal of hepatology*.

Fréquence et signification des blips au cours du traitement de l'hépatite B par analogues de deuxième génération

Introduction :

L'échec au traitement contre l'hépatite B est un événement rare chez les patients traités par l'entécavir ou le ténofovir. Une élévation transitoire de l'ADN du VHB inférieur à 1log, dits blips, peut être observée, mais leur signification est inconnue. L'objectif de notre étude était d'évaluer l'incidence de ces blips, les facteurs de risque de ceux-ci et d'évaluer l'impact à long terme sur l'évolution de la maladie hépatique.

Résultats :

Le suivi médian des patients après la réponse virologique était de 54 mois. 34 (24%) des patients ont présenté au moins un blip après un délai médian de 19 mois. L'incidence cumulée de blips à 1, 3 et 5 ans était de 1,5%, 9,5% et 26,1%. Les blips ont été isolés chez 23 patients, multiples chez 10 patients, et précurseur d'une résistance au traitement chez un patient. En analyse multivariée, la persistance de l'ADN du VHB à 12 mois de traitement était le seul facteur associé aux blips. Une mauvaise observance, évaluée par l'échelle Morisky et par des dosages pharmacologiques a été associée dans certains cas à des blips. Les patients qui avaient présenté des blips, avaient le même taux de réponse sérologique et biochimique aux traitements et la même incidence des événements liés au foie par rapport aux patients qui n'avaient pas présentés de blips.

Conclusion :

La présence de blips n'est pas un événement rare chez les patients sous traitement ETV / TDF. Bien que leur impact clinique semble limité, le renforcement de l'observance et de la surveillance doit être conseillé.

Mots Clés : Résistance VHB, observance, dosage pharmacologique,, score Morisky greene,

HBV DNA, HBV PCR

Frequency and significance of blips in chronic hepatitis B patients treated by entecavir or tenofovir: long-term results from a single centre cohort

Short title: Blips in treated chronic hepatitis B

Aude MONTCHAUD¹, Marie-Noëlle HILLERET^{1,2}, Alice MARLU¹, Sylvie LARRAT^{3,4}, Jean-François JOURDIL⁵, Thomas DECAENS^{1,2}, Jean-Pierre ZARSKI^{1,2}, Françoise STANKE-LABESQUE^{5,6,7}, Vincent LEROY^{1,2}.

¹Clinique Universitaire d'Hépatogastroentérologie, Pôle Digidune, CHU de Grenoble, France, ²Unité INSERM / Université Grenoble Alpes U823, IAPC Institut Albert Bonniot, Grenoble, France, ³Laboratoire de Virologie, Pôle Biologie, CHU de Grenoble, Grenoble, France, ⁴Unit of Virus Host Cell Interactions UMI 3265 UJF-EMBL-CNRS, Grenoble, France, ⁵Laboratoire de Pharmacologie-Toxicologie, CHU de Grenoble, Grenoble, France, ⁶Université Grenoble Alpes, Grenoble, France ⁷INSERM U1042, HP2, Grenoble, France

List of abbreviations

ADV: Adefovir

CHB: Chronic hepatitis B

ETV: Entecavir

HBV: Hepatitis B virus

HCV: Hepatitis C virus

HIV: Human Immunodeficient virus

IQR: Interquartile range

LAM: Lamivudine

NA: Nucleos-t-ide analog

TE: Transient elastography

TDF: Tenofovir

Conflict of interest.

The authors declare no conflicts of interest related to the study

Financial support.

This study was funded by the Direction de la Recherche Clinique, Grenoble University Hospital

ABSTRACT

Background & aims: Treatment failure is a rare event in chronic hepatitis B patients treated by entecavir or tenofovir. Transient HBV DNA elevation of less than 1 Log, so-called blips, can be observed but their significance is unknown. Aims of our study were to evaluate the incidence of blips, risk factors and long-term impact on liver disease outcome.

Methods: 141 naïve or experienced patients treated by entecavir and/or tenofovir who achieved virological response were included. Virological monitoring was performed every 3 months using a sensitive PCR assay. Blips were defined by detection of HBV DNA ranging from 20 to 200 IU/ml.

Results: Median follow-up of patients after virological response was 54 months. 34 (24%) patients experienced at least one blip after a median time of 19 months. The cumulative incidence of blips at 1, 3 and 5 years was 1.5%, 9.5% and 26.1%. Blips were isolated in 23 patients, multiple in 10 patients, and preceded resistance in one patient. By multivariate analysis, persistence of HBV DNA at 12 months of treatment was the only factor associated to blips. Poor adherence, assessed by the Morisky scale and by pharmacological dosages was in some cases associated to blips. Patients who experienced blips had the same rate of serological and biochemical response and the same incidence of liver-related events compared to patients who did not.

Conclusion: Occurrence of blips is not a rare event in patients on ETV/TDF therapy. Although their clinical impact appears limited, reinforcement of adherence and monitoring should be advised.

Keywords: HBV resistance, adherence, pharmacological dosages, Morisky green scale, HBV DNA, HBV PCR

Introduction

Current treatment guidelines consider pegylated interferon and second generation nucleos(-)ide analogues (NAs) as first-line treatment for chronic hepatitis B(CHB) [1]. The main goal of treatment is prevention of cirrhosis, hepatic decompensation, and hepatocellular carcinoma. This goal can be achieved when viral replication is fully suppressed on a sustained manner. Long term studies with entecavir (ETV) and tenofovir (TDF) have shown that the vast majority of patients achieve undetectable HBV DNA using sensitive assays [2, 3]. The rate of breakthrough, which is defined by a viral rebound greater than 1 Log, remains limited over time with few or no resistance documented for ETV and TDF. Some patients might present another pattern of viral rebound manifested by transient elevations of HBV DNA of less than 1 Log that are so-called blips. This phenomenon was mainly described in HIV-infected patients on anti-retroviral therapy that can experience HIV RNA blips [4]. These blips have been explained by error rate of the PCR assays, intermittent poor adherence, sign of persistent low-level viral replication below the threshold of detection or initial breakthrough leading to treatment failure and emergent drug resistance. Although they do not seem to have a strong clinical impact their significance remains debated. Only few data have been reported on incidence and impact of HBV DNA blips in CHB patients. Recent studies conducted in HIV-HBV patients treated by TDF or HBV mono-infected treated by lamivudine (LAM) have reported rates of patients experiencing blips ranging from 10 to 20% [5-7]. To the best of our knowledge no data is available in HBV mono-infected patients treated by ETV or TDF. Therefore, the objectives of this single-centre cohort were to evaluate the incidence and the risk factors of HBV DNA blips, and their long-term impact on virological and liver disease outcome.

PATIENTS AND METHODS

Patients

Consecutive patients with chronic hepatitis B in whom ETV and/or TDF was initiated in our centre from 2005 to 2013 were considered for inclusion if they had achieved undetectable HBV DNA and were followed-up at least one year after virological response. Prior exposure to interferon or first generation NAs was allowed. Diagnosis of chronic hepatitis was based on the presence of HBsAg and HBV DNA for at least 6 months prior to first antiviral treatment. Exclusion criteria included age under 18 years, co-infection with human immunodeficiency virus (HIV), hepatitis delta virus, or hepatitis C virus and previous liver transplantation. Among a total population of 188 treated CHB patients 2 were excluded for not achieving undetectable HBV DNA, 4 because follow-up was less than one year, and 41 for other exclusion criteria. Eventually, the study population included 141 patients. Demographic data were recorded at time of ETV or TDF initiation. The study protocol conformed to the ethical guidelines of the 1975 Helsinki Declaration and was approved by our institutional review board. Patients were enrolled after giving their written informed consent.

Virological monitoring

HBs and HBeAg status was determined at baseline then every 6 months. HBV DNA levels were measured by the COBAS TaqMan HBV Test (Roche) that has a detection limit of 20 IU/mL. HBV DNA was strictly monitored every 3 months during the full treatment period.

Definitions of virological response and failure

Virological response was defined by undetectable HBV DNA occurring on ETV/TDF therapy. Viral breakthrough was defined by HBV DNA increase of more than 1 Log, which means > 200 IU/ml when HBV DNA was previously undetectable. Blip was defined by viral rebound from undetectable HBV DNA to levels ranging from 20 to 200 IU/ml.

Evaluation of disease severity

A liver biopsy was available in 106 (75.2%) patients and was performed with a median time of 28 months before treatment initiation. Activity and fibrosis were graded and staged according to the METAVIR scoring system. At treatment initiation severity of chronic hepatitis B was based on alanine aminotransferase (ALT) serum levels and liver stiffness evaluated by transient elastography (TE) (Fibroscan®). TE was repeated during the treatment period on a yearly basis. Periodic surveillance for hepato-cellular carcinoma (HCC) was performed by liver ultra-sound every 6 months in patients with extensive fibrosis or cirrhosis. Hepatic events (HCC, decompensated cirrhosis, liver transplantation and liver-related death) were recorded.

Assessment of adherence

To assess treatment adherence, Morisky green adherence questionnaire modified by Girerd was used prospectively in a sub-group of 56 patients every 6 months on a time period of 1 year [8]. This 6 items evaluation scale does address how patients may fail to take medication as prescribed due to forgetfulness, carelessness, feeling of drugs negative impact on their general health or futility. Patients were considered as having poor adherence when answering positively to at least 2 questions.

Quantitation of tenofovir and entecavir in plasma

ETV and TDF dosages were performed on frozen plasma that were collected every 6 months, at time of blip occurrence when plasma samples were available, and at random time points in patients who did or did not experience blips during the treatment period. Drugs were quantified by two different liquid chromatography - tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) methods. Details on both analytical methods are available in online supplementary data file. For both analytes the within- day and inter-day coefficients of variation for accuracy and

precision were <15%. The lower limits of quantitation for tenofovir and entecavir were 10 µg/L and 50 ng/L respectively.

Statistical analysis

Descriptive results were expressed as a median and interquartile range (IQR) or as a number and percentage of patients. Comparisons between groups of patients were performed for all clinical parameters at baseline and during follow-up using Student or Mann-Witney test for continuous variables and Pearson's chi-square test or Fisher's exact test for categorical variables. Multivariate analysis was performed using stepwise logistic regression model. Incidence of blips according to treatment groups were compared using the log-rank test. Yearly fibrosis progression was estimated by dividing the difference between first and last liver stiffness by the delay in year between the two measures. All calculations and statistic tests were performed using SPSS.19.

RESULTS

Characteristics of patients and treatment regimens

The main demographic and disease features of patients are presented in Table 1. Sixty five patients were naïve and 76 were previously exposed to first generation NAs. Experienced patients received LAM/ADV for a median time of 46 (range 4-96) months prior to ETV/TDF initiation. Consequently, they had lower HBV DNA, ALT and liver stiffness levels, and were less likely to be HBeAg positive. Twenty (20%) patients had initial evidence of cirrhosis on liver biopsy, with a greater prevalence in experienced patients. However, due to previous antiviral treatment liver stiffness was lower at ETV/TDF initiation. TDF alone was used in 71 (50%) patients, more frequently in experienced than in naïve patients, and ETV alone was used in 51 (37%) patients. ETV + TDF combination was used in 18 (12%) patients who had

either LAM+ADV resistance (n=10) or high HBV DNA at baseline (n=8). At ETV/TDF initiation first generation NAs were stopped in 46 (61%) patients (switch strategy) and continued in 30 (39%) patients (add-on strategy). Some therapeutic changes were made during the follow-up: TDF was added to ETV in 2 cases showing slow virological response, TDF was replaced by ETV in one case that experienced tubulopathy, and ETV was replaced by TDF in two cases before pregnancy. Additionally, LAM was stopped in all TDF treated patients after a median time of 42 (range 21-60) months, and ADV was either stopped (n=8) or replaced by TDF (n=10) in ETV treated patients after a median time of 27 (range 9-60) months.

Virological response

In naïve patients the median time to obtain undetectable HBV DNA was 6.0 (range 3-60) months. Forty (53%) experienced patients had undetectable HBV DNA on first generation NAs when they were switched to ETV/TDF therapy. For the remaining patients the median time to obtain response was 3.6 (range 3-51) months. Cumulative incidence of virological response is presented in Figure 1. Taking the whole population, the rates of response at 1, 2 and 3 years were 86%, 94% and 96% respectively.

Incidence of blips

After achievement of virological response the median follow-up was 47 (range 12-84) months in naïve and 66 months (range 30-90) in experienced patients, yielding a total of 2 543 study visits that represented 91% of scheduled visits. Thirty four (24%) patients experienced at least one blip after a median time of 19 (range 3-60) months. They were 19 (29%) naïve and 15 (19%) experienced patients. As shown in Figure 3, the overall cumulative incidence of blips at 1, 3 and 5 years was 1.5%, 9.5% and 26.1% respectively, without significant difference between naïve and experienced patients. Figure 3 shows the outcome of patients after their

first blip episode. One LAM-resistant patient treated by ETV due to TDF renal toxicity had 3 months later a 3.3 Log HBV DNA increase with documented rtL180M, rtM204V and rtS202G conferring resistance to ETV. For the 33 (97%) other patients HBV DNA returned to undetectable levels at the next visit. Although blips were isolated in the majority of cases, 11(34%) patients experienced at least another blip, and 4 (13%) experienced multiple blips, accounting for a total of 55 blips observed throughout the study period. No other viral rebound was observed. Median HBV DNA at time of blip occurrence was 29 (range 22-82) IU/ml.

Factors associated to blip occurrence

As presented in Table 2, characteristics of patients were compared according to presence or absence of blips. Taking the whole population, patients who experienced blips during the treatment period had baseline greater HBV DNA levels, were more often HBeAg positive and had a slower viral decline with 4.7 fold more probability to have detectable HBV DNA after 12 months of treatment. By contrast, type of NA, history of LAM or ADV resistance or severity of liver disease had no impact on blip occurrence. By multivariate analysis, persistence of detectable HBV DNA at month 12 was the only parameter associated to blip occurrence (OR=8.8, CI95% 2.56 – 26.3, $p < 0,001$). Absence of response remained significantly associated to blips when naïve and experienced patients were analyzed separately (data not shown). Figure 3 shows incidence of blips according to response at month 12. The cumulative incidence of blips at 3 and 5 years were 1.0% and 11.5% for responders and 56.0% and 69.2% for non-responders ($p < 0.0001$).

Impact of adherence on blips occurrence

Adherence to treatment was prospectively assessed by the Morisky green scale in a sub-group of 56 patients. Poor adherence was detected in 3/20 (15.0%) patients who experienced blips and in 2/36 (5.6%) of those who did not, but the difference was not significant. Additionally pharmacological dosages were performed in 39 plasma samples collected at time of blips from patients treated by ETV (n=15), TDF (n=12) and ETV + TDF (n=6). No drug was detected in plasma in 5/39 (12%) assays, ETV in 3 cases and TDF in 2 cases. Interestingly, two patients on dual ETV + TDF therapy had only one drug (once ETV and once TDF) undetectable in plasma. Drug dosages were then randomly performed in 141 samples taken when HBV DNA was undetectable. Drug levels were not detectable in 5/53 (10.9%) patients who had blips and in 4/91 (4.1%) patients who did not ($p=0.047$). Finally, specific attention was paid for the four patients who experienced more than two blips. Two of them had undetectable drug dosage at least at one occasion, one was considered poorly adherent by the Morisky green scale, and two patients in whom Morisky was not performed had evidence from their medical records of poor adherence.

Relationships between blips occurrence and disease outcome

Relationships between occurrence of blips and serological and biochemical response, fibrosis progression and liver events were then investigated. Results are summarized in Table 3. HBeAg loss occurred in 24 (51%) patients, without significant difference according to presence or absence of blips. HBsAg loss was observed in only 2 patients that had not experienced blips. Biochemical response was similar between both groups of patients. By contrast, fibrosis progression estimated by comparing liver stiffness between the first and the last TE performed after a median time of 4.7 years was -0.07 kPa/year in patients who never experienced blips and $+ 0.19$ kPa/year in patients with blips ($p=0.043$). While statistically

significant, these changes were however minimal. Finally, liver events were rare and occurred at the same frequency in both groups of patients.

DISCUSSION

Treatment failure in chronic hepatitis B has become a rare phenomenon since second generation NAs ETV and TDV have been available. In clinical practice, some treated patients with undetectable HBV DNA can present with transient viral levels elevation, but data on actual incidence are lacking. The first finding of our study is that occurrence of blips is not a rare event, with a cumulative incidence of 26% at 5 years. These results are in the same range than that reported in co-infected patients treated by TDF. In two recent studies, rates of patients experiencing blips were 10 and 17%, respectively [5, 6]. Incidence of blips can be impacted by several methodological factors. The risk of false positive results due to light contamination from adjacent wells with high viraemia during the PCR was initially suspected in HIV studies but is not likely to occur with PCR assays currently used for detecting HBV DNA. By contrast, sensitivity of the PCR assay has a major impact. HBV DNA was present at very low levels at time of blips. In our series 94% of blips would have been missed by using an assay with a sensitivity of 69 IU/ml. Since this threshold is commonly given in clinical trials it could explain why blips have not been reported so far [2, 3]. Another factor is the frequency of viral monitoring, as more frequent study visits lead to increase probability of detecting blips. In one HIV study, 9/10 patients with viral suppression who were tested for HIV RNA every 2–3 days over 4 months showed at least one HIV RNA blip. The strength of our study is that a close monitoring –every 3 months- was proposed and actually done in our study population, with a same amount of study visits in patients with and without blips. It could be hypothesized that more patients would have experienced blips if even closer monitoring was applied, but this remains an unresolved issue. This point arises the question of

the actual significance of blips. The crucial question is whether presence of blips means persistence of low viral replication below the threshold of detection of sensitive PCR assays. Interestingly, we found that slow virological response was the main factor associated to episodes of blips. It is known that high HBV DNA and HBeAg positivity are the main factors leading to late virosuppression and sometimes failure to achieve undetectable HBV DNA [9]. In a recent study conducted in immuno-tolerant patients with baseline high viral load, 45% of them had residual viral replication above 69 IU/ml after 4 years of treatment [10]. It is thus conceivable that blips are an occasional marker of residual low viral replication. However, combination therapies did not alter the rate of blips in our study, while it seems to improve virosuppression in patients with high HBV DNA levels [10, 11]. Persistence of low levels of viral replication on the long term might in theory promote resistance. In the HIV setting, a large European cohort study of 2,055 patients showed a slightly increased risk of virological failure for patients with single blips in HIV RNA in the range of 51–500 copies/mL. However, other studies showed that HIV RNA blips did not have any impact, and they are no longer considered as virological failure [12]. In our study, one patient had detectable HBV DNA levels of less than 1 Log followed 3 months later by a true breakthrough with documented resistance to ETV. Rather than a blip, the initial HBV DNA detection was thus the first signal of resistance. It should be pointed out that this patient was LAM-resistant and ETV therapy, given due to TDF toxicity was not appropriate [13]. In other situations, the risk of resistance appears to be extremely low with drugs harboring high genetic barrier of resistance. For ETV, Chang et al [3] reported that 1/146 patients treated over 5 years experienced viral breakthrough caused by resistance. For TDF, patients presented viral breakthrough in 13/426 (3%) that were mainly explicated by inappropriate adherence [14].

Besides virological factors, poor adherence is thought to be the major cause of treatment failure. The rate of adherence in CHB has been estimated at 88% in a US study based on pharmacy claims conducted on 11 000 patients [15]. In another cohort of 111 patients the same team has reported that adherence of less than 100% was associated with a greater risk of breakthrough [16]. Sogni et al [17] also described a link between poor adherence to first generation NAs and treatment failure. The main limitation of our study is that adherence could not be assessed prospectively in the whole population. However, patients experiencing blips were three times more likely to be poorly adherent than patients without blip, although the difference was not significant. Moreover, evaluation by the Morisky scale-GREEN might have underestimated levels of adherence, as it depends of patient's answers. Furthermore, pharmacological assays showed that drugs were not detected in 12% of cases at time of blips, suggesting that in some situations blips are directly related to poor adherence. Because analyses were performed retrospectively on frozen samples without knowledge of time of drug intake results could be only interpreted on a binary way (presence or absence of drug). Given the half-life of TDF (10 hours) and ETV (150 hours) it can be estimated that the delay required from the last drug intake to get undetectable drugs levels are around 5 days and 4 weeks, respectively. Thus, this method might be not sensitive enough to detect all poorly adherent patients, especially those on ETV. An unresolved issue is whether slow virological response on ETV/TDF is favored by poor adherence, as we recently describe in patients treated by ADV [18]. It is conceivable that optimal adherence to achieve virological response depends on virological characteristics, and is greater in difficult-to-treat patients. In one HIV/HBV study, HBe positivity, which is usually associated to slower response was associated to blips [6]. Interestingly, patients with transient PV had significantly lower CD41 cell counts, compared to other replication groups, whereas nadir CD41 cell count was significantly lower among patients with PV overall. Because adaptive cellular mechanisms

are intrahepatically impaired in HIV-HBV coinfection, it could be hypothesized that the loss of HBV-specific immunological control in the liver might have elicited bouts of transient. HBeAg positivity is also known to impair cellular immune response [19]. Finally, it can be hypothesized that blips are associated to low residual viral replication that might be the consequence of a part of viral resistance and a part of poor adherence.

We finally searched for relationships between presence of blips and disease outcome.

Contrary to the study by Boyd et al [5], we did not find any relationship between blips and HBeAg loss. We also found no association with liver-related events. The REVEAL study demonstrated that risk of cirrhosis was low for the two lowest HBV DNA stratus - less than 300 and 300–9.9 x10³ copies/ml- which have cumulative risk at 12 years of 4.5% and 5.9%, respectively [20]. Surprisingly, our results indicate that fibrosis estimated by TE might continue to accumulate in patients with blips while it decreases in patients without blips. These results should be interpreted cautiously, since TE was not performed in all patients. Moreover, TE could be not accurate enough in treated hepatitis B [21]. In the study by Marcellin et al [22] showing that reversion of fibrosis usually occurs in patients treated by TDF, high viral load was not associated to fibrosis outcome. Therefore, additional data using paired liver biopsies are mandatory to draw definitive conclusions.

In conclusion, our study shows that blips can be observed in patients on ETV/TDF, especially in those with slow virological response. Although their virological and clinical consequences seem limited it should be advised to check adherence and reinforce monitoring.

References

- [1] EASL Clinical Practice Guidelines: management of hepatitis C virus infection. *J Hepatol* 2014;60:392-420.
- [2] Kitrinos KM, Corsa A, Liu Y, Flaherty J, Snow-Lampart A, Marcellin P, et al. No detectable resistance to tenofovir disoproxil fumarate after 6 years of therapy in patients with chronic hepatitis B. *Hepatology* 2014;59:434-42.
- [3] Chang TT, Lai CL, Kew Yoon S, Lee SS, Coelho HS, Carrilho FJ, et al. Entecavir treatment for up to 5 years in patients with hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B. *Hepatology* 2010;51:422-30.
- [4] Grennan JT, Loutfy MR, Su D, Harrigan PR, Cooper C, Klein M, et al. Magnitude of virologic blips is associated with a higher risk for virologic rebound in HIV-infected individuals: a recurrent events analysis. *J Infect Dis* 2012;205:1230-8.
- [5] Boyd A, Gozlan J, Maylin S, Delaugerre C, Peytavin G, Girard PM, et al. Persistent viremia in human immunodeficiency virus/hepatitis B coinfecting patients undergoing long-term tenofovir: virological and clinical implications. *Hepatology* 2014;60:497-507.
- [6] Matthews GV, Seaberg EC, Avihingsanon A, Bowden S, Dore GJ, Lewin SR, et al. Patterns and causes of suboptimal response to tenofovir-based therapy in individuals coinfecting with HIV and hepatitis B virus. *Clin Infect Dis* 2013;56:e87-94.
- [7] Stornaiuolo G, Stanzone M, Brancaccio G, Cuomo G, Precone V, Di Biase S, et al. Viral blips during long-term treatment with standard or double dose lamivudine in HBe antigen negative chronic hepatitis B. *World J Gastroenterol* 2007;13:5642-7.
- [8] Morisky DE, DiMatteo MR. Improving the measurement of self-reported medication nonadherence: response to authors. *J Clin Epidemiol* 2011;64:255-7; discussion 258-63.
- [9] Zoutendijk R, Reijnders JG, Brown A, Zoulim F, Mutimer D, Deterding K, et al. Entecavir treatment for chronic hepatitis B: adaptation is not needed for the majority of naive patients with a partial virological response. *Hepatology* 2011;54:443-51.
- [10] Chan HL, Chan CK, Hui AJ, Chan S, Poordad F, Chang TT, et al. Effects of tenofovir disoproxil fumarate in hepatitis B e antigen-positive patients with normal levels of alanine aminotransferase and high levels of hepatitis B virus DNA. *Gastroenterology* 2014;146:1240-8.
- [11] Lok AS, Trinh H, Carosi G, Akarca US, Gadano A, Habersetzer F, et al. Efficacy of entecavir with or without tenofovir disoproxil fumarate for nucleos(t)ide-naïve patients with chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 2012;143:619-28 e1.
- [12] Pozniak A, Gupta RK, Pillay D, Arribas J, Hill A. Causes and consequences of incomplete HIV RNA suppression in clinical trials. *HIV Clin Trials* 2009;10:289-98.
- [13] Reijnders JG, Deterding K, Petersen J, Zoulim F, Santantonio T, Buti M, et al. Antiviral effect of entecavir in chronic hepatitis B: influence of prior exposure to nucleos(t)ide analogues. *J Hepatol* 2014;52:493-500.
- [14] Snow-Lampart A, Chappell B, Curtis M, Zhu Y, Myrick F, Schawalder J, et al. No resistance to tenofovir disoproxil fumarate detected after up to 144 weeks of therapy in patients mono-infected with chronic hepatitis B virus. *Hepatology* 2011;53:763-73.
- [15] Chotiayaputta W, Peterson C, Ditah FA, Goodwin D, Lok AS. Persistence and adherence to nucleos(t)ide analogue treatment for chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2011;54:12-8.
- [16] Chotiayaputta W, Hongthanakorn C, Oberhelman K, Fontana RJ, Licari T, Lok AS. Adherence to nucleos(t)ide analogues for chronic hepatitis B in clinical practice and correlation with virological breakthroughs. *J Viral Hepat* 2012;19:205-12.
- [17] Sogni P, Carrieri MP, Fontaine H, Mallet V, Vallet-Pichard A, Trabut JB, et al. The role of adherence in virological suppression in patients receiving anti-HBV analogues. *Antivir Ther* 2012;17:395-400.
- [18] Hilleret MN, Larrat S, Stanke-Labesque F, Leroy V. Does adherence to hepatitis B antiviral treatment correlate with virological response and risk of breakthrough? *J Hepatol* 2011;55:1468-9; author reply 1469-70.

- [19] Martinet J, Dufeu-Duchesne T, Bruder Costa J, Larrat S, Marlu A, Leroy V, et al. Altered functions of plasmacytoid dendritic cells and reduced cytolytic activity of natural killer cells in patients with chronic HBV infection. *Gastroenterology* 2012;143:1586-1596 e8.
- [20] Iloeje UH, Yang HI, Su J, Jen CL, You SL, Chen CJ. Predicting cirrhosis risk based on the level of circulating hepatitis B viral load. *Gastroenterology* 2006;130:678-86.
- [21] Leroy V, Kim SU. Can transient elastography be used for the management of chronic hepatitis B patients? *Liver Int* 2012;32:528-30.
- [22] Marcellin P, Gane E, Buti M, Afdhal N, Sievert W, Jacobson IM, et al. Regression of cirrhosis during treatment with tenofovir disoproxil fumarate for chronic hepatitis B: a 5-year open-label follow-up study. *Lancet* 2013;381:468-75.

Table 1: Characteristics of naïve and experienced patients

	Naïve patients n=65	Experienced patients n=76	p value
Age (year)	40.9 (31.3-54.8)	51.5 (43.5-52.3)	0.0001
Men (n, %)	44 (67.7)	58 (76.3)	0.254
BMI (Kg/m ²)	24.2 (21.5-26.4)	25.6 (22.7-29.4)	0.008
Ethnicity (n, %) Europe Africa Asia	 23 (35.4) 26 (40.0) 16 (24.6)	 42 (55.3) 16 (21.1) 18 (23.7)	 0.027
ALT (IU/L)	55 (32-132)	32 (21-46)	0.014
HBeAg (+) (n, %)	20 (30.8)	16 (21.1)	0.187
HBV DNA (Log IU/ml)	5.8 (4.1-7.2)	1.3 (1.3-3.0)	0.0001
Fibrosis F3F4 (n, %)*	12 (19.7) ⁴	31 (56.4) ²¹	0.005
Liver stiffness (kPa)	6.9 (5.1-9.2) ⁹	5.8 (4.3-8.2) ²⁴	0.0622
Prior drug exposition (n, %) IFN LAM ADV	 3 (4.6) 0 0	 31 (40.8) 60 (78.9) 64 (84.2)	 0.0001
Viral resistance (n, %) LAM ADV	 - -	 35(46.1) 16 (21.1)	 - -
Treatment regimen (n, %) ETV TDF ETV + TDF	 31 (47.7) 28 (43.1) 6 (9.2)	 21 (27.6) 43 (56.6) 12 (15.8)	 0.043

Results are given at median (IQR).

*: Results from liver biopsy performed before any antiviral treatment, with a median time of 6 months for naïve and 54 months in experienced patients. ⁿ: missing values, excluded of percentages

Table 2: Comparison of patients according to presence or absence of blips

	Patients with blips n=34	Patients without blips n=107	p value
Age (year)	44.9 (36.5-52.7)	48.8 (35.9-60.1)	0.140
Men (n, %)	26 (76.5)	76 (71.0)	0.351
BMI (Kg/m ²)	25.4 (22.5-28.5)	25.2 (21.9-29.4)	0.575
Ethnicity (n, %) Europe Africa Asia	18 (52.9) 7 (20.6) 9 (26.5)	47 (43.9) 35 (32.7) 25 (23.4)	0.400
ALT (IU/L)	52 (30-99)	37 (24-69)	0.450
HBeAg (+) (n, %)	17 (50.0)	30 (28.0)	0.018
HBV DNA (Log IU/ml)	4.7 (2.1-6.6)	2.7 (1.3-5.9)	0.040
Fibrosis F3F4 (n, %)	8 (29.6) ⁷	28 (31.5) ¹⁸	0.529
Liver stiffness (kPa)	5.1 (4.3-8.6) ⁹	6.9 (4.9-8.7) ²⁴	0.107
LAM/ADV exposition	15 (44.1)	61 (57.0)	0.189
LAM/ADV resistance	9 (26.5)	25 (23.4)	0.327
Treatment regimen (n, %) ETV TDF ETV + TDF	16 (47.1) 12 (35.3) 6 (17.6)	36 (33.7) 59 (55.1) 12 (11.2)	0.128
Number of study visits	19 (13-22)	20 (14-22)	0.550
Delay of response (months)	6.3 (2.5-16.7)	2.7 (0-5.6)	0.007
Non response at M12 (n, %)	16 (47.1)	11 (10.3)	0.0001

Results are given at median (IQR). ⁿ: missing values, excluded of percentages.

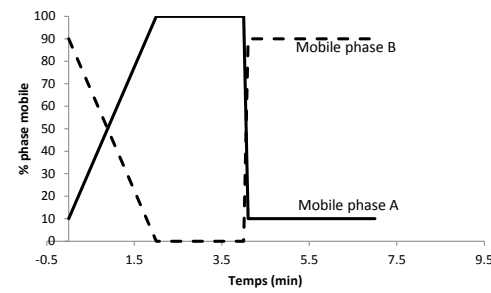
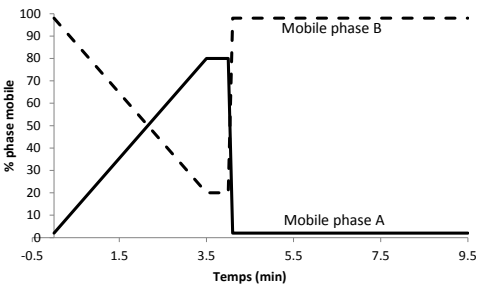
Table 3: Outcome of liver disease according to presence or absence of blips

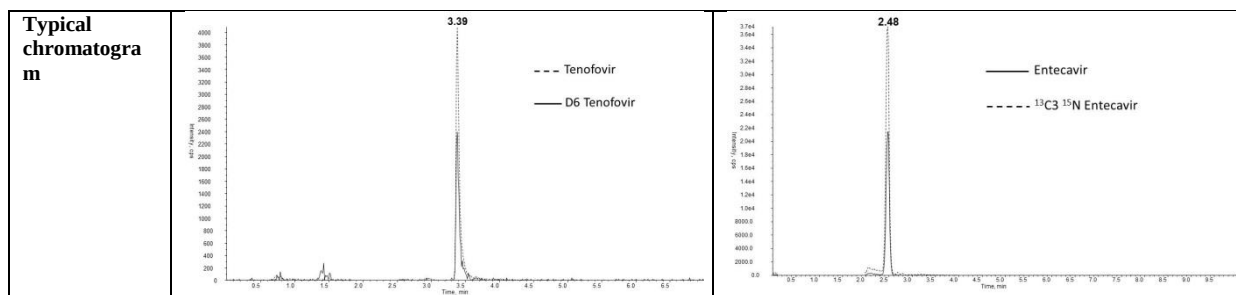
	Patients with blips n=34	Patients without blips n=107	p value
HBsAg loss (n, %)	0	2 (1.9)	0.456
HBeAg loss (n, %)*	9 (52.9)	13 (43.3)	0.097
ALT M12 (IU/ml)**	30 (24-43)	28 (21-40)	0.375
ALT M24 (IU/ml)**	31 (23-47)	29 (23-39)	0.198
ALT M36 (IU/L)**	32 (26-44)	32 (23-40)	0.709
Fibrosis progression (kPa/year)	0.19 (-0.08-0.75) ¹¹	- 0.07 (-0.42-0.21) ²⁹	0.043
Liver-related events (n, %)	2 (5.6)	5 (4.7)	0,777

Results are given at median (IQR). ⁿ: missing values, excluded of percentages.

* Percentages are given on the HBeAg positive population. ** Time points are given after HBV DNA negativation.

Supplementary Table 1 : Description of the analytical methods used for the quantitation of tenofovir and entecavir.

	Tenofovir	Entecavir																																																																																								
Sample preparation	Proteine precipitation : . 50 µL of plasma +150 µL of precipitation reagent (acetonitrile + 0.1% perchloric acid), containing the internal standard (D₆-tenofovir at 100 µg/L) . 30 s vortex . 10 min, 25 000 x g . Transfert of 125 µL of supernatant in LC vial	Solid Phase Extraction on WATERS OASIS® HLB 1cc column. . Conditioning: 900 µL methanol, then 900 µL ultrapure water. . Loading : 300 µL of a sample mixture (110 µL sample + 220 µL of internal standard ¹³C₃ ¹⁵N entecavir at 1000 ng/L). . Washing : 2300 µL of ultrapure water. . Elution : 2 times with 150 µL of methanol. . Evaporation to dryness under nitrogen . Reconstitution with 50 µL of ultrapure water/acetonitrile 50/50 v/v and transfert to HPLC vial.																																																																																								
LC	. Device : Shimadzu LC-20A Prominence . Analytical column: Phenomenex, Luna HILIC 100x2, 3 µm. . Mobile phase A : ammonium formate 10mM . Mobile phase B : Acetonitrile + 0.1% formic acid . Analytical gradient :  . Autosampler : thermostated at 4°C. Injection volume: 5 µL. . Column oven : thermostated at 70°C	. Device : Thermo Dionex Ultimate 3000 . Column : Macherey Nagel HILIC 150x2.1, 3 µm . Mobile phase A : ammonium acetate 20mM, adjusted to pH 5 with acetic acid. . Mobile phase B : Acetonitrile. . Analytical gradient :  . Autosampler : thermostated at 4°C. Injection volume: 5 µL. . Column oven : thermostated at 60°C																																																																																								
MS/MS	. Device : triple quadrupole mass spectrometer ABSciex API 3200 QTRAP . Ionization mode and polarity: electrospray, positive mode. . Source parameters : <table><tr><td>Collision gas</td><td>10 psi</td></tr><tr><td>Curtain gas</td><td>30 psi</td></tr><tr><td>Nebulizer gas</td><td>50 psi</td></tr><tr><td>Turbo heater gas</td><td>60 psi</td></tr><tr><td>Voltage</td><td>5 500 V</td></tr><tr><td>Temperature</td><td>600°C</td></tr></table> . Compound dependent parameters: <table><tr><th>Analyte</th><th>Q1</th><th>Q3</th><th>Dwell time (ms)</th><th>DP (V)</th><th>EP (V)</th><th>CE (V)</th><th>CXP (V)</th></tr><tr><td>Tenofovir 1 quantitation</td><td>288</td><td>176</td><td>20</td><td>61</td><td>10</td><td>37</td><td>4</td></tr><tr><td>Tenofovir 2 confirmation</td><td>288</td><td>152</td><td>300</td><td>51</td><td>6</td><td>35</td><td>4</td></tr><tr><td>D₆Tenofovir</td><td>294</td><td>182</td><td>50</td><td>61</td><td>10</td><td>37</td><td>4</td></tr></table>	Collision gas	10 psi	Curtain gas	30 psi	Nebulizer gas	50 psi	Turbo heater gas	60 psi	Voltage	5 500 V	Temperature	600°C	Analyte	Q1	Q3	Dwell time (ms)	DP (V)	EP (V)	CE (V)	CXP (V)	Tenofovir 1 quantitation	288	176	20	61	10	37	4	Tenofovir 2 confirmation	288	152	300	51	6	35	4	D ₆ Tenofovir	294	182	50	61	10	37	4	. Device : triple quadrupole mass spectrometer ABSciex API 4000 . Ionization mode and polarity: electrospray, positive mode. . Source parameters : <table><tr><td>Collision gas</td><td>10 psi</td></tr><tr><td>Curtain gas</td><td>30 psi</td></tr><tr><td>Nebulizer gas</td><td>50 psi</td></tr><tr><td>Turbo heater gas</td><td>60 psi</td></tr><tr><td>Voltage</td><td>5 500 V</td></tr><tr><td>Temperature</td><td>600°C</td></tr></table> . Compound dependent parameters: <table><tr><th>Analyte</th><th>Q1</th><th>Q3</th><th>Dwell time (ms)</th><th>DP (V)</th><th>EP (V)</th><th>CE (V)</th><th>CXP (V)</th></tr><tr><td>Entecavir 1 quantitation</td><td>278</td><td>152</td><td>300</td><td>61</td><td>10</td><td>25</td><td>12</td></tr><tr><td>Entecavir 2 confirmation</td><td>278</td><td>135</td><td>40</td><td>61</td><td>10</td><td>49</td><td>12</td></tr><tr><td>¹³C₃ ¹⁵N Entécavir</td><td>282</td><td>156</td><td>300</td><td>61</td><td>10</td><td>25</td><td>12</td></tr></table>	Collision gas	10 psi	Curtain gas	30 psi	Nebulizer gas	50 psi	Turbo heater gas	60 psi	Voltage	5 500 V	Temperature	600°C	Analyte	Q1	Q3	Dwell time (ms)	DP (V)	EP (V)	CE (V)	CXP (V)	Entecavir 1 quantitation	278	152	300	61	10	25	12	Entecavir 2 confirmation	278	135	40	61	10	49	12	¹³ C ₃ ¹⁵ N Entécavir	282	156	300	61	10	25	12
Collision gas	10 psi																																																																																									
Curtain gas	30 psi																																																																																									
Nebulizer gas	50 psi																																																																																									
Turbo heater gas	60 psi																																																																																									
Voltage	5 500 V																																																																																									
Temperature	600°C																																																																																									
Analyte	Q1	Q3	Dwell time (ms)	DP (V)	EP (V)	CE (V)	CXP (V)																																																																																			
Tenofovir 1 quantitation	288	176	20	61	10	37	4																																																																																			
Tenofovir 2 confirmation	288	152	300	51	6	35	4																																																																																			
D ₆ Tenofovir	294	182	50	61	10	37	4																																																																																			
Collision gas	10 psi																																																																																									
Curtain gas	30 psi																																																																																									
Nebulizer gas	50 psi																																																																																									
Turbo heater gas	60 psi																																																																																									
Voltage	5 500 V																																																																																									
Temperature	600°C																																																																																									
Analyte	Q1	Q3	Dwell time (ms)	DP (V)	EP (V)	CE (V)	CXP (V)																																																																																			
Entecavir 1 quantitation	278	152	300	61	10	25	12																																																																																			
Entecavir 2 confirmation	278	135	40	61	10	49	12																																																																																			
¹³ C ₃ ¹⁵ N Entécavir	282	156	300	61	10	25	12																																																																																			



LC: liquid chromatography, MS/MS: tandem mass spectrometry, DP: voltage settings declustering potential, EP, entrance potential, CE, collision energy, and CXP, collision cell exit potential.

Figure 1 : Cumulative percentage of negativity viral load

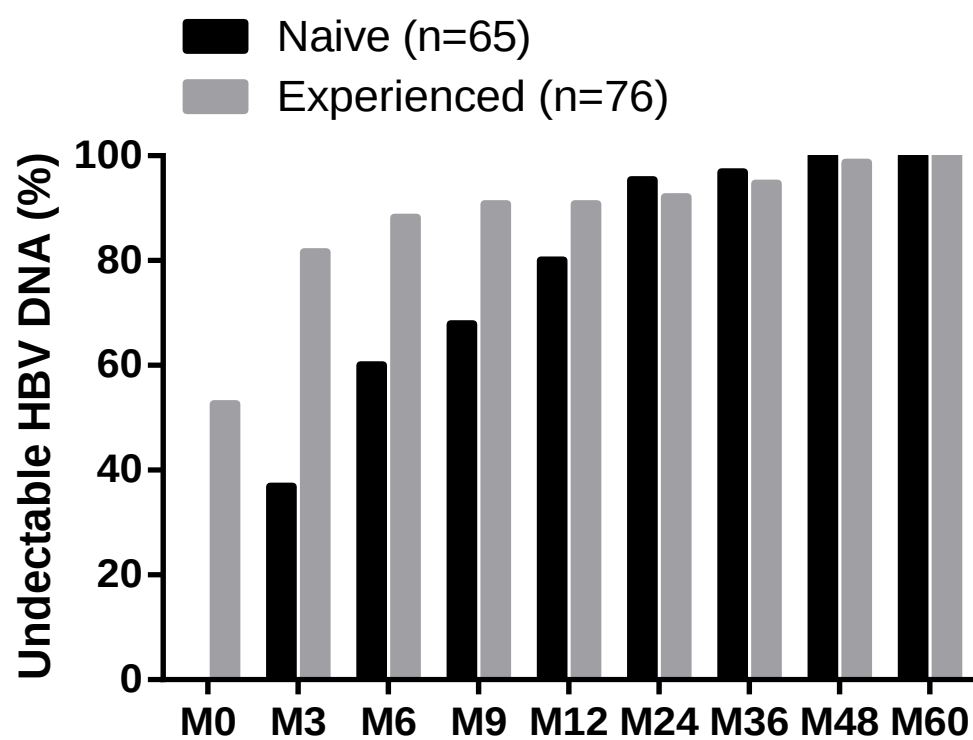


Figure 2 : Monitoring of patients with blips

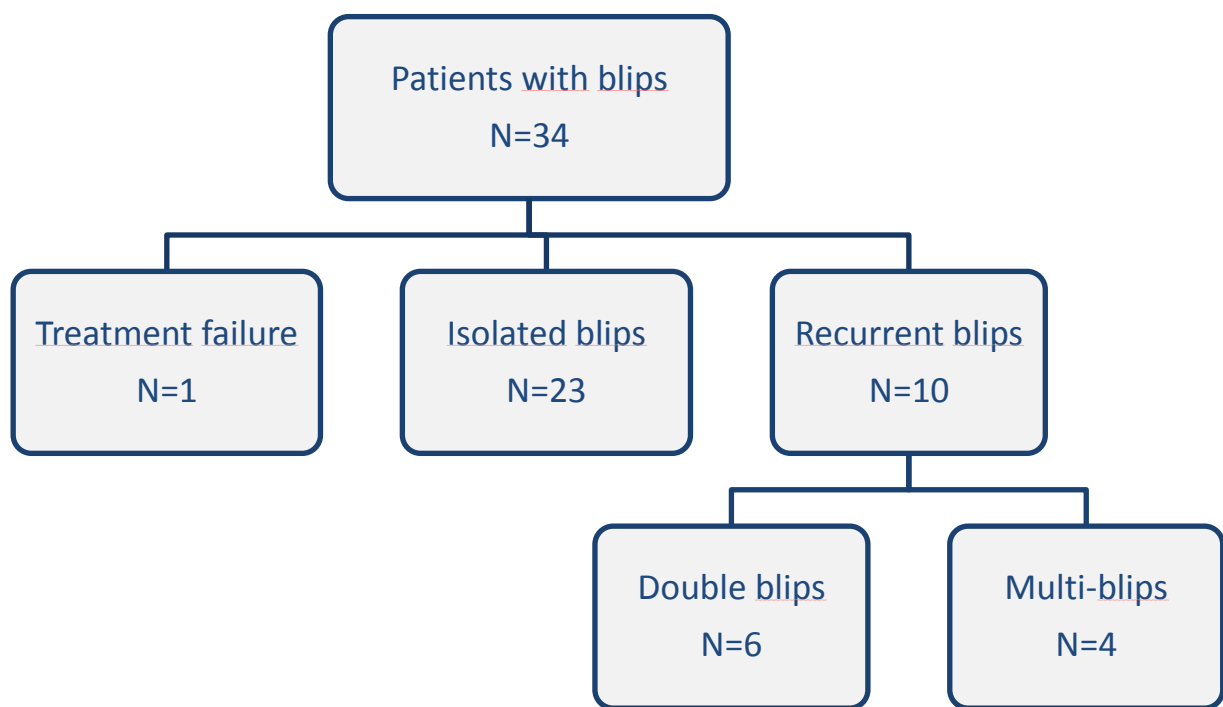
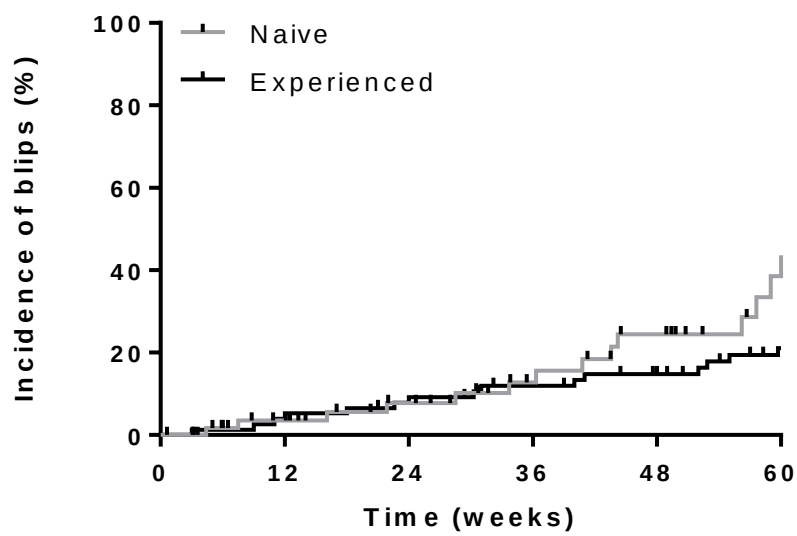


Figure 3 : Incidence of blips

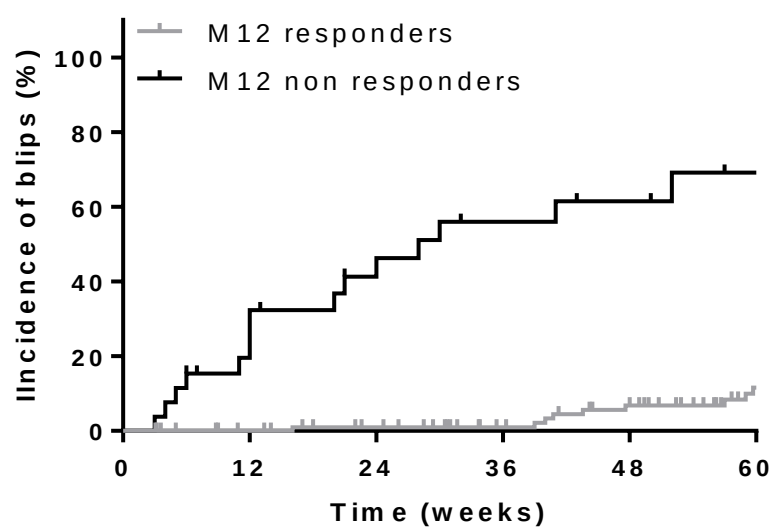
Figure 3



Naive n=65 62 246 38 125
 Experienced n=76 76 73 69 64 58

Figure 4 : Incidence of blips (2)

Figure 4



M12R n=14 114 101 11 12 12

M12NR n=27 20 12 10 7 6

SYNTHESE

Ce sujet sur les blips est très intéressant. En effet, il s'agit d'un article original. Il n'existe pas de données dans la littérature alors qu'il s'agit d'un phénomène fréquent qui va concerner environ un patient sur quatre au cours d'un traitement par des analogues nucléosidiques (24% des patients de notre étude ont présenté un blip).

Il était important d'avoir une étude pour permettre à répondre à ces questions simples que tous hépatologues qui suivent ces patients sous analogues peuvent se poser.

Dans notre article, on a pu mettre en évidence que le seul facteur de risque de blips est une charge virale positive au douzième mois de traitement ($p < 0.001$). Le fait donc d'avoir une décroissance lente est prédicteur de faire des blips.

La non-observance n'a pas pu ressortir comme facteur de blips mais cela reste une cause fréquente de blips. Le manque d'effectif et donc de puissance doit être une cause dans l'explication que l'observance n'est pas ressortie dans notre série comme statistiquement significatif dans la survenue des blips.

Cependant l'inobservance n'explique pas tous les blips mais pour les patients multi-blips, il est certain qu'une mauvaise observance est présente et favorise la survenue de ces blips.

Il serait intéressant de poursuivre l'investigation en prospective avec poursuite des évaluations par auto-questionnaire et dosage pharmacologique. L'étude Adhep qui est en cours d'investigation pourrait aider à l'évaluation de l'observance.

La conséquence de ces blips semble limitée. Ces résultats sont en accord avec les résultats chez les patients co-infectés VIH-VHB. Ce pendant dans notre étude, le fait de présenter des blips est un facteur de risque pour une progression de la fibrose contrairement au groupe sans blips. Ces résultats sont à interpréter de façon prudente mais cela pourrait sous-entendre que le fait d'avoir une charge virale faible mais non négative représente un risque plus important de progression de fibrose. Il est donc nécessaire de surveiller ces patients et d'évaluer si les patients ont exceptionnellement eu une charge virale positive ou si cela est un phénomène redondant.

Ces blips pourraient donc être également dû à un défaut de puissance antivirale des analogues qui font que ces patients ont un contrôle insuffisant du VHB et une charge virale

transitoirement positive ou toujours positive mais à des seuils trop faible pour nos technique de détection.

Il pourrait être également dû à l'inobservance. Lorsque le traitement par des analogues est pris de façon aléatoire, sa concentration sanguine diminue et une reprise de la réplication peut être observée. Ainsi la charge virale peut réaugmenter. Ce phénomène semble se voir de façon plus importante chez les patients qui avaient une charge virale élevé initialement. En effet du fait de cette charge virale élevée, dès l'absence de traitement, la reprise de la réplication virale est rapidement observée.

Ces données devront être confirmées ou infirmées par de nouvelles études.

CONCLUSION

(*) THESE SOUTENUE PAR : MONTCHAUD Aude

(*) TITRE :

Fréquence et signification des blips au cours du traitement de l'hépatite B par analogues de deuxième génération

(*) CONCLUSION

Introduction :

La fréquence et la signification des blips (élévation modérée et transitoire de l'ADN du VHB) est mal connue chez les malades atteints d'hépatite B traités par analogues. L'objectif de l'étude était d'évaluer l'incidence, les facteurs de risque et l'impact clinique de ces blips.

Patients et méthodes :

141 malades consécutifs traités par analogue de 2^e génération et ayant obtenu une réponse virologique (ADN VHB < 20 UI/ml) ont été inclus dans cette étude mono-centrique. La surveillance (ALAT et ADN du VHB) était trimestrielle pendant 2 ans ou jusqu'à négativation de l'ADN du VHB puis semestrielle. Un blip était défini par un ADN du VHB > 20 UI/ml, suivi par une négativation sur le contrôle suivant. L'évaluation de l'observance a été réalisée en prospective pour 56 patients par l'échelle de Morisky-Green. Des dosages pharmacologiques ont été réalisés au moment des blips.

Résultats :

Les caractéristiques des malades étaient les suivantes : âge médian 47 ans (extrêmes 18-80), hommes 72,3%, ADN du VHB 6,1 log UI/ml, AgHBe (+) 25,5%, ALAT 38 UI/ml, METAVIR F3F4 25%. Les malades recevaient ETV (37%), TDF (50%), ou ETV + TDF (13%). Il s'agissait d'une première ligne de traitement dans 46% des cas. La durée médiane de suivi sous traitement était de 65 mois (9-107). Une réponse virologique était observée à M12 dans 85,6% des cas, à M24 dans 96,6%. Un seul cas d'échappement a été observé. La survenue d'au moins un blip était observée chez 34 (24%) des malades. Le délai médian de survenue par rapport au début du traitement était de 28,5 mois (6-74). Ces blips étaient uniques dans 23 cas et suivis d'un ou plusieurs autres blips dans 11 cas. La médiane d'ADN du VHB au moment du blip était de 29 UI/ml. Les facteurs significativement associés à la survenue d'un blip étaient le statut AgHBe(+) initial (41,2% vs 20,6%, p=0.016) ; une charge virale élevée, un délai de négativation plus long et une charge virale toujours positive à M12 (60% vs 15%, p<0,001). Un défaut d'observance rapporté par l'investigateur ou par l'évolution par Morisky-Green n'était pas associé aux blips. La présence de ces blips n'était pas associée à une différence sur la réponse biochimique, sérologique ni sur l'évolution de la fibrose monitorée par la mesure de l'élasticité du foie, ni à la survenue d'événements hépatiques (7 cas incluant 5 carcinomes hépato-cellulaires).

Cette étude montre que des blips sont observés chez près d'un quart des malades traités par analogue après un suivi de 5 ans. Ils sont plus fréquents chez les malades ayant une réponse virologique lente ce qui pourrait témoigner soit d'une limite de la puissance antivirale des analogues chez ces malades difficiles à traiter soit à un défaut d'observance. La survenue de blips ne semble enfin pas avoir de conséquence clinique.

(*) Grenoble, le 13/10/2014

(*) J.P. ROMANET

(*) J.P. ROMANET

(*) PROFESSEUR

Professeur Jean-Pierre ZARSKI
Clinique Universitaire d'Hépatite Gastroentérologie
Pôle DIGESTIF
CHU de Grenoble
Tél. 04 76 76 54 41
N° RPPS 10000055000

ANNEXE 1

QUESTIONNAIRE D'EVALUATION DE L'OBSERVANCE Questionnaire adapté de Morisky-Green

Date : |__|_|_| |__|_|_| |__|_|_|

COMMENT RÉPONDRE : Les questions qui suivent portent sur votre connaissance de vos médicaments et votre santé, telle que vous la ressentez. Ces informations nous permettront de mieux identifier les contraintes liées à votre traitement.

Ce questionnaire comprend 1 page.

1. Ce matin, avez-vous oublié de prendre vos médicaments ? Oui ☐ Non ☐
2. Depuis la dernière consultation, avez-vous été en panne de médicaments ? Oui ☐ Non ☐
3. Vous est-il arrivé de prendre votre traitement avec du retard par rapport à l'heure habituelle ? Oui ☐ Non ☐
4. Vous est-il arrivé de ne pas prendre votre traitement parce que certains jours votre mémoire vous fait défaut ? Oui ☐ Non ☐
5. Vous est-il arrivé de ne pas prendre votre traitement parce que certains jours vous avez l'impression que votre traitement vous fait plus de mal que de bien ? Oui ☐ Non ☐
6. Pensez-vous que vous avez trop de comprimés à prendre ? Oui ☐ Non ☐

BIBLIOGRAPHIE

- [1] European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of chronic hepatitis B virus infection; *J Hepatol* 2012 vol. 57:167–185
- [2] European Association for the Study of the Liver. EASL clinical practice guidelines: management of chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2009; 50:227–242.
- [3] EMC Virologie de l'hépatite B ; M.-A. Petit a, C. Trépo b
- [4] Figure 1 : Source schéma James E Perkins 2002
- [5] Meffre C, Le Strat Y , Delarocque-Astagneau E, Dubois F, Antona D, Lemasson JM, et al. Prevalence of hepatitis B and hepatitis C virus infections in France in 2004: social factors are important predictors after adjusting for known risk factors. *J Med Virol* 2010; 82: 546-55
- [6] Figure 3: Source: Copyright © 2006-13 University of Washington
- [7] Brouard C, Bousquet V, Leon L, Pioche C, Lot F, Semaille C, et al. Incidence de l'hépatite aiguë symptomatique en France en 2010 , enquête LaboHep 2010. *Bull Epidemiol Hebd* 2013; 19: 210-3
- [8] Iloeje U.H., Yang H.I., Su J., Jen C.L., You S.L., Chen C.J. Predicting cirrhosis risk based on the level of circulating hepatitis B viral load. *Gastroenterology* 2006; 130: 678-686
- [9] Chien-Jen Chen, ScD; Hwai-I. Yang, MSc; Jun Su, MD, MSc; Chin-Lan Jen, MSc; San-Lin You, PhD; Sheng-Nan Lu, MD, PhD; Guan-Tarn Huang, MD; Uchenna H. Iloeje, MD, MPH; for the REVEAL-HBV Study Group. Risk of Hepatocellular Carcinoma across a Biological Gradient of Serum Hepatitis B Virus DNA Level. *JAMA*. 2006; 295(1):65-73

- [10] Paratheodoridis GV, Manolakopoulos S, Liaw YF, Lok A, Follow-up and indications for liver biopsy in HBeAg-negative chronic hepatitis B virus infection with persistently normal ALT: a systematic review. *J Hepatol* 2012; 57: 196-202
- [11] Chan HL, Wong GL, Choi PC, Chan AW, Chim AM, Yiu KK, et al. Alanine aminotransferase-based algorithms of liver stiffness measurement by transient elastography (FibroScan) for liver fibrosis in chronic hepatitis B. *J viral Hepat* 2009; 16: 36-44.
- [12] Lau GK, Piratvisuth T, Luo KX, Marcellin P, Thongsawat S, Cooksley G, et al. Peginterferon Alfa-2a, lamivudine, and the combination for HBeAg-positive chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 2005;352:2682–2695.
- [13] Janssen HL, van ZM, Senturk H, Zeuzem S, Akarca US, Cakaloglu Y, et al. Pegylated interferon alfa-2b alone or in combination with lamivudine for HBeAg-positive chronic hepatitis B: a randomised trial. *Lancet* 2005;365:123–129.
- [14] Lai CL, Chien RN, Leung NW, Chang TT, Guan R, Tai DI, et al. A one-year trial of lamivudine for chronic hepatitis B. Asia Hepatitis Lamivudine Study Group. *N Engl J Med* 1998;339:61–68.
- [15] Chang TT, Gish RG, de Man R, Gadano A, Sollano J, Chao YC, et al. A comparison of entecavir and lamivudine for HBeAg-positive chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 2006;354:1001–1010.
- [16] Lai CL, Gane E, Liaw YF, Hsu CW, Thongsawat S, Wang Y, et al. Telbivudine versus lamivudine in patients with chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 2007;357:2576–2588.
- [17] Marcellin P, Chang TT, Lim SG, Tong MJ, Sievert W, Shiffman ML, et al. Adefovir dipivoxil for the treatment of hepatitis B antigen-positive chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 2003;348:808–816.
- [18] Marcellin P, Heathcote EJ, Buti M, Gane E, de Man RA, Krastev Z, et al. Tenofovir disoproxil fumarate versus adefovir dipivoxil for chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 2008;359:2442–2455.

- [19] Tassopoulos NC, Volpes R, Pastore G, Heathcote J, Buti M, Goldin RD, et al. Efficacy of lamivudine in patients with hepatitis B e antigen-negative/ hepatitis B virus DNA-positive (precore mutant) chronic hepatitis B. *Hepatology* 1999;29:889–896.
- [20] Marcellin P, Lau GK, Bonino F, Farci P, Hadziyannis S, Jin R, et al. Peginterferon alfa-2a alone, lamivudine alone, and the two in combination in patients with HBeAg-negative chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 2004;351:1206–1217.
- [21] Lai CL, Shouval D, Lok AS, Chang TT, Cheinquer H, Goodman Z, et al. Entecavir versus lamivudine for patients with HBeAg-negative chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 2006;354:1011–1020.
- [22] Hadziyannis SJ, Tassopoulos NC, Heathcote EJ, Chang TT, Kitis G, Rizzetto M, et al. Adefovir dipivoxil for the treatment of hepatitis B antigen-negative chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 2003;348:800–807.
- [23] Mommeja-Marin H, et al. Serum HBV DNA as a marker of efficacy during therapy for chronic HBV infection: analysis and review of the literature. *Hepatology* 2003 ;37 : 1309-19)
- [24] Shim JH, Lee HC, Kim KM, Lim YS, Chung YH, Lee YS, Suh DJ; Efficacy of entecavir in treatment-naïve patients with hepatitis B virus-related decompensated cirrhosis. *J Hepatol* 2010; 52: 176–182)
- [25] Liaw YF, Sheen IS, Lee CM, Akarca US, Papatheodoridis GV, Suet-Hing Wong F, Chang TT, Horban A, Wang C, Kwan P, Buti M, Prieto M, Berg T, Kitrinis K, Peschell K, Mondou E, Frederick D, Rousseau F, Schiff ER., Tenofovir disoproxil fumarate (TDF), emtricitabine/TDF, and entecavir in patients with decompensated chronic hepatitis B liver disease. *Hepatology* 2011;53: 62-72)
- [26] Papatheodoridis GV, Lampertico P, Manolakopoulos S, Lok A. Incidence of hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis B patients receiving nucleos(t)ide therapy: a systematic review. *J Hepatol* 2010; 53: 348-356

[27] Chotiyaputta W, Peterson C, Ditah FA, Goodwin D, Lok AS. Persistence and adherence to nucleos(t)ide analogue treatment for chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2010;54 (1):12–18.

[28] Hilleret MN, et al. Does adherence to hepatitis B antiviral treatment correlate with virological response and risk of breakthrough? *J Hepatol* 2011 vol. 55 j 1467–1472

[29] Donald E. Morisky, and M. Robin DiMatteo Improving the measurement of self-reported medication nonadherence: *J Clin Epidemiol*. 2011 March ; 64(3): 255–263.