

Séroprévalence des anticorps antinucléaires chez les patients préalablement exposés au VHB

[Seroprevalence of antinuclear antibodies in patients previously exposed to hepatitis B virus]

Fassih Mohamed¹, Moryno Hiba², Drissi Bourhanbour Asma¹, and El Bakkouri Jalila¹

¹Laboratoire d'Immunologie, CHU Ibn Rochd, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Hassan II, Casablanca, Morocco

²Laboratoire de bactériologie et virologie, CHU Ibn Rochd, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Hassan II, Casablanca, Morocco

Copyright © 2022 ISSR Journals. This is an open access article distributed under the **Creative Commons Attribution License**, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ABSTRACT: Objective: To evaluate the correlation between total anti-Hbc antibody seropositivity and anti-nuclear antibody seropositivity, in order to prove an association between hepatitis B virus infection and the pathogenesis of autoimmune diseases. Material and methods: Retrospective case-control study, conducted in the immunology department of CHU Ibn Rochd of Casablanca from January 2017 to January 2022, evaluating the results of the analyses of 1099 patients, in whom a search for antinuclear antibodies was simultaneously carried out with the search for Hbs antigen and total anti-Hbc antibodies. The patients were divided into two groups. A control group with 937 Hbs antigen and Hbct antibody negative patients and a case group with 162 patients positive for total anti-Hbc antibody. Testing for antinuclear antibodies was performed by indirect immunofluorescence on slides sensitised with Hep-2 cells. Hbs antigen and total anti-Hbc antibodies were tested by automated immunochemiluminescence. Results: We obtained a seroprevalence of anti-nuclear antibodies of 40.75% in the case group and 22% in the control group ($P < 0.0001$). No statistically significant difference between the two groups in the frequency distribution of fluorescence patterns in antinuclear antibodies positive patients was observed ($P = 0.617$). Conclusion: Our study, in correlation with various literature data, affirms an established association between hepatitis B virus and various autoimmune diseases.

KEYWORDS: Antinuclear antibodies, Anti-Hbc antibodies, Seroprevalence, Fluorescence patterns, Autoimmune diseases.

RESUME: Objectif: Evaluer la corrélation entre la séroposivité des Anticorps anti-Hbc totaux et des anticorps anti-nucléaire, afin de prouver une association entre l'infection par le virus de l'hépatite B et la pathogénèse des maladies auto-immunes. Matériel et méthodes: Etude rétrospective cas-témoins, menée dans le service d'immunologie CHU Ibn Rochd de Casablanca du janvier 2017 au janvier 2022, évaluant les résultats des analyses de 1099 patients, chez lesquels, une recherche d'anticorps antinucléaires a été simultanément réalisée avec la recherche de l'antigène Hbs et des anticorps anti Hbc totaux. Les patients ont été divisés en deux groupes. Un groupe témoin comportant 937 patients négatifs pour l'antigène Hbs et les anticorps Hbc totaux et un groupe de cas rassemblant 162 patients possédant des Anticorps anti-Hbc totaux positifs. La recherche des anticorps antinucléaires a été effectuée par immunofluorescence indirecte sur des lames sensibilisées par des cellules Hep-2. La recherche de l'Antigène Hbs et des Anticorps Hbc totaux a été effectuée par immuno-chimiluminescence automatisée. Résultats: Nous avons obtenu une séroprévalence des anticorps antinucléaires de l'ordre de 40,75% chez le groupe de cas et de 22% chez le groupe des témoins ($P < 0.0001$). Aucune différence statistiquement significative entre les deux groupes, en ce qui concerne la répartition des fréquences des aspects de fluorescence chez les anticorps antinucléaires positifs, n'a été

observée ($P = 0.617$). Conclusion: Notre étude, en corrélation avec diverses données bibliographiques, affirme une association établie entre le virus de l'hépatite B et diverses atteintes auto-immunes.

MOTS-CLEFS: Anticorps antinucléaires, Anticorps anti-Hbc, Séroprévalence, Aspects de fluorescence, Maladies auto-immunes.

1 INTRODUCTION

Les maladies auto-immunes sont généralement considérées comme étant relativement rares, cependant la prévalence globale de toutes les maladies auto-immunes est d'environ 5 à 7 % dans la population générale [1]. Elles résultent classiquement de la combinaison de facteurs de prédispositions génétiques et de facteurs environnementaux [2]. Les virus ont été considérés comme des facteurs environnementaux majeurs dans le déclenchement de phénomènes auto-immuns [3]. Les virus de l'hépatite B (VHB) et de l'hépatite C (VHC) figurent parmi les virus ayant été largement associés aux maladies auto-immunes [4]. Bien qu'il existe de nombreuses études sur les infections par le VHC compliquées d'affections auto-immunes et d'apparition d'auto-anticorps [5], [6], [7], on ne dispose actuellement que de quelques rares données sur l'auto-immunité associée au VHB dans la littérature.

On estime, à échelle mondiale, que près de deux milliards de personnes ont été exposées au VHB, soit le tiers de la population mondiale [8]. Bien que le VHB soit réputé d'affecter principalement les hépatocytes, il est important de prendre en considération le spectre des manifestations extra-hépatiques pouvant être associées à cette infection. Les affections extra-hépatiques les plus fréquemment décrites sont: La glomérulonéphrite, la polyarthrite, le rash cutané, la cryoglobulinémie et la péri-artérite noueuse. La physiopathologie de ces affections repose principalement sur la mise en place d'une réponse immunitaire exagérée pouvant impliquer une réaction auto-immune [9].

Les anticorps antinucléaires sont des auto-anticorps dirigés contre divers composants protéiques, nucléiques et ribonucléoprotéiques du noyau, du cytoplasme ou de la membrane cellulaire [10]. Ils sont présents dans le sérum de plus de 90 % des patients atteints des maladies auto-immunes systémiques et peuvent également être détectés dans de nombreuses autres pathologies infectieuses et cancéreuses [11]. Les anticorps antinucléaires constituent l'un des importants marqueurs des connectivites. Leur recherche correspond souvent à la première étape du diagnostic des maladies auto-immunes systémiques comme le lupus érythémateux disséminé, le syndrome de Sjogren, la sclérodermie et certaines connectivites mixtes [10].

Notre étude consiste à comparer la séroprévalence des anticorps antinucléaires entre les patients ayant préalablement été exposés au VHB, se présentant ainsi avec une sérologie positive pour les anticorps anti Hbc totaux, et les patients n'ayant jamais été en contact avec le virus (négatives pour l'antigène Hbs et les anticorps anti-Hbc totaux). La corrélation entre la séropositivité des Anticorps anti-Hbc totaux et des anticorps antinucléaires permettra, d'une part de déceler la présence d'une composante auto-immune dans la pathogénèse des manifestations extra-hépatiques lors des infections par le VHB, et d'autre part de démontrer le rôle déclencheur de ce virus dans les réactions auto-immunes.

2 MATERIEL ET MÉTHODES

Nous avons conduit une étude rétrospective cas-témoins en évaluant les résultats des analyses de 1099 patients, chez lesquels, une recherche d'anticorps antinucléaires a été simultanément réalisée avec la recherche de l'antigène Hbs (AgHbs) et des anticorps anti Hbc totaux (AcHbc t), au sein du laboratoire d'immunologie au CHU Ibn Rochd Casablanca, pendant une période s'étalant du premier janvier 2017 au premier janvier 2022. Les sujets co-infectés par le VHC ou le VIH ont été exclus de l'étude.

2.1 CAS TÉMOIN

Nous avons divisé les sujets de l'étude en deux groupes dont la distribution d'âge et de sexe est similaire (Tableau 1). Le premier groupe est un groupe témoin comportant 937 patients négatifs pour Ag Hbs et Ac Hbct et n'ayant, par conséquent, jamais été exposés au VHB. Le deuxième groupe est un groupe de cas, il rassemble 162 patients possédant des Ac Hbct positifs, quel que soit le résultat des AgHbs, prouvant ainsi une exposition préalable au VHB relative soit à une infection ancienne résolutive (AgHbs négatifs), soit à une infection en cours (AgHbs positifs). Nous avons par la suite déterminé la séroprévalence des anticorps antinucléaires dans chaque groupe, tout en évaluant la fréquence des aspects de fluorescence observés.

2.2 MARQUEURS SÉROLOGIQUES DU VHB EMPLOYÉS DANS L'ÉTUDE

Les marqueurs sérologiques AgHbs et Achbct sont utilisés pour caractériser un contact avec le VHB. L'AgHbs constitue le premier marqueur à apparaître après une infection par le VHB. Il est décelable dès la phase précoce, environ deux semaines avant l'apparition des Ac Hbc-IgM. Sa positivité indique la présence du virus dans l'organisme. Il disparaît au bout de 6 mois lors des infections aiguës. Cependant, lors des infections chroniques, l'AgHbs persiste plusieurs années et même toute la vie dans la plupart des cas (12) (13). Les Ac Hbc totaux (IgG, IgM) se développent chez tous ceux qui contractent une infection par le VHB, qu'elle soit aiguë ou chronique. Ils ne se produisent pas après une vaccination, ce qui les rend spécifiquement attribuables à un contact avec le virus. Ces anticorps apparaissent rapidement après le contact viral et persistent plusieurs années, voire à vie suite à la guérison. Ce sont donc des excellents marqueurs épidémiologiques du contact avec le VHB.

La sérologie qualitative de l'AgHbs et des Achbc totaux a été effectuée par immuno-chimiluminescence automatisée (CMIA-Architect i 2000 SR) en utilisant des microparticules paramagnétiques recouvertes d'antigènes recombinants du "core" de l'hépatite B pour le test des Achbc totaux et d'anticorps anti-Hbs pour le test AgHbs. La présence ou l'absence d'anti-Hbc ou d'AgHbs dans l'échantillon est déterminée en divisant l'intensité de la luminescence résultante de la réaction de l'échantillon, exprimée en unités de lumière relative, à celle du « cutoff » déterminée lors d'une calibration active (S/CO = Echantillon RLU/Cutoff RLU). Un rapport supérieur ou égal à 1 est considéré positif.

2.3 ANTICORPS ANTINUCLÉAIRES

La recherche des anticorps antinucléaires a été réalisée par la technique d'immunofluorescence indirecte semi-quantitative sur des lames sensibilisées par des lignées cellulaires Hep-2 et par des sections de foie de singe (EUROIMMUN AG). Les titres d'anticorps antinucléaires supérieurs ou égaux à 160 sont considérés comme positifs. En cas de résultat positif, l'aspect de fluorescence correspondant est noté.

2.4 ANALYSE STATISTIQUE

Nous avons employé le test du Khi deux (χ^2) pour comparer les variables catégoriques de la séroprévalence des anticorps antinucléaires et de la fréquence des aspects de fluorescence entre les cas et les témoins. Nous avons, par la suite, utilisé la valeur du Khi deux de Pearson calculée pour chacune des variables, pour déterminer la valeur signification asymptotique bilatérale (Valeur P). Les valeurs P bilatérales inférieures au seuil α , défini sur 0,05, ont été considérées comme statistiquement significatives.

3 RESULTATS

3.1 DISTRIBUTION DE L'ÂGE ET DU SEXE CHEZ LES SUJETS ÉTUDIÉS

Les deux groupes étaient caractérisés par une prédominance féminine et une moyenne d'âge allant de 41 à 47 ans.

Tableau 1. Sexe Ratio et moyenne d'âge dans les deux groupes

	Groupe 1	Groupe 2
Sexe ratio (Femme/Hommes)	1.81	1.52
Moyenne d'âge (ans)	41	47

3.2 SÉROPRÉVALENCE DES AAN

Sur 937 patients AgHbs et Achbc totaux négatifs, 206 possédaient des anticorps antinucléaires à titre supérieur ou égal à 160. Sur 162 patients Achbc positifs, 66 se sont révélés positifs pour les AAN. Nous avons obtenu une séroprévalence des AAN de l'ordre de 40,75% chez le groupe de cas et de 22% chez le groupe des témoins (Tableau 2 et figure 1). La différence entre les deux séroprévalences s'est révélée statistiquement significative avec un test valide du Khi carré révélant une Khi-deux de Pearson égale à 26.088 et une valeur P inférieure à 0.0001 et ne dépassant donc pas le seuil α .

Tableau 2. Fréquence des ANA chez les patients HBc positifs et les témoins HBc négatifs

	HBc négatifs n (%)	HBc positifs n (%)	P
ANA positif	206 (22%)	66 (40,7%)	<0,0001

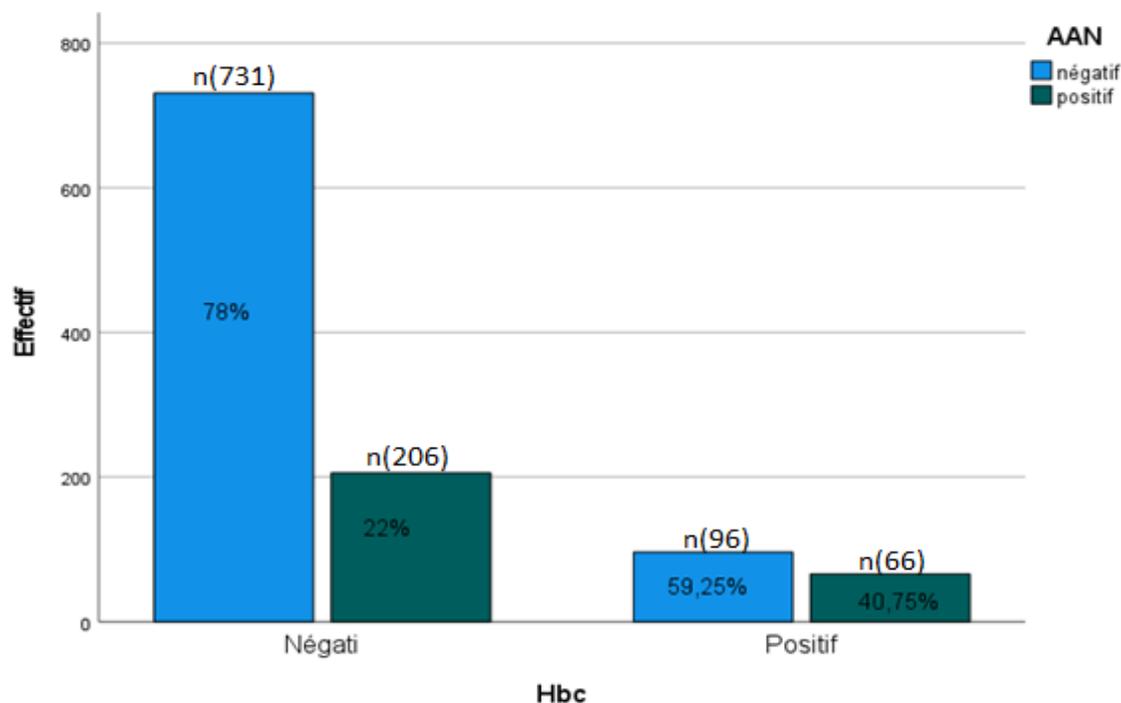


Fig. 1. Séroprévalences des AAN chez les deux groupes de sujets

3.3 FRÉQUENCE DES ASPECTS DE FLUORESCENCE

Nous avons noté une prédominance de l'aspect moucheté chez les patients présentant des anticorps antinucléaires positifs dans les deux groupes des patients, avec une fréquence de l'ordre de 54.3% chez le groupe des cas et de 55.9% chez les témoins. Les fréquences relatives aux aspects de fluorescence nucléaire homogène, cytoplasmique (FC), nucléolaire et centromériques sont détaillées dans le tableau 3 et la figure 2.

Le test Khi carré révèle une Khi deux de Pearson de 2,654 et une valeur P de 0.617, supérieure au seuil alpha. Ceci indique l'absence de différence statistiquement significative entre les deux groupes, en ce qui concerne la répartition des fréquences des aspects de fluorescence chez les AAN positifs.

Tableau 3. Fréquences des aspects de fluorescence chez les sujets AAN positifs dans les deux groupes

Aspect de fluorescence	HBc négatifs n (%)	HBc positifs n (%)	P
Centromérique	11 (5,34%)	6 (9,1%)	0.617262
Cytoplasmique	31 (15%)	10 (15%)	
Nucléaire homogène	45 (21,8%)	10 (15%)	
Nucléaire moucheté	113 (54,85%)	37 (56,06%)	
Nucléolaire	6 (2,9%)	3 (4,45%)	

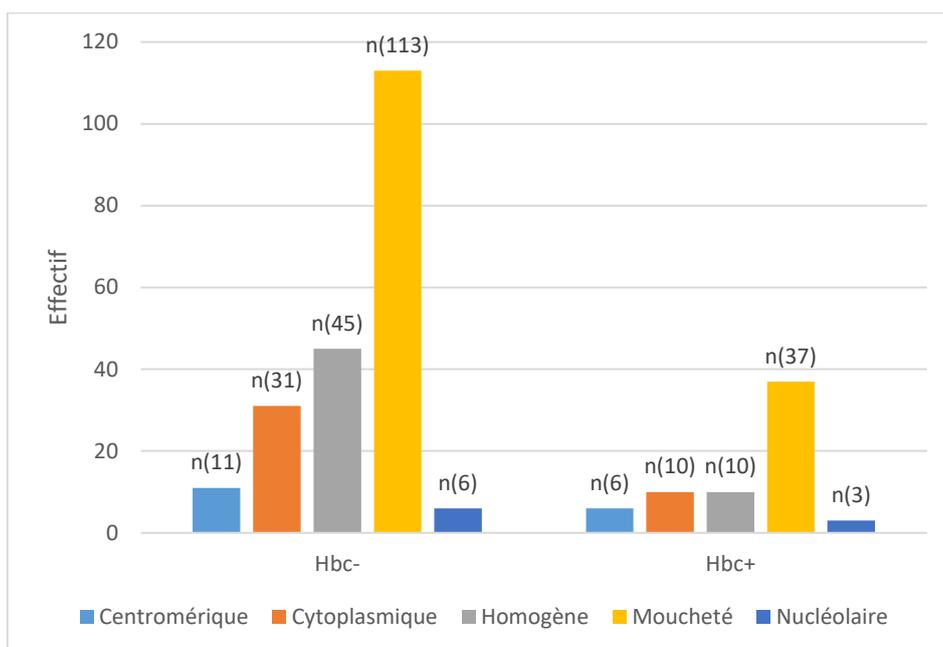


Fig. 2. Répartition des aspects de fluorescence chez les deux groupes

4 DISCUSSION

La séroprévalence significativement élevée des anticorps antinucléaires, chez le groupe des patients ayant déjà été exposé au VHB par rapport au groupe témoin, suggère une implication probable du VHB dans le déclenchement de diverses manifestations auto-immunes. L'absence d'un aspect de fluorescence prépondérant est en faveur d'un rôle déclencheur non limité à des entités pathologiques définies. L'infection par le VHB peut, par conséquent, jouer un rôle déclencheur dans une large panoplie d'atteintes auto-immunes.

Le rôle déclencheur du VHB, suggéré dans notre travail, dans la genèse des maladies auto-immunes est soutenu par les résultats de plusieurs études rapportés dans la littérature, qui vont dans le même sens. Ainsi Li et al [14] rapportent une séroprévalence élevée, de l'ordre de 58.2%, d'anticorps antinucléaires chez les patients atteints d'hépatite B chronique, similaire à la prévalence de 66,2 % chez les personnes atteintes de la maladie de d'hépatite C chronique et significativement plus élevé que la prévalence de 6,7 % chez les contrôles sains de leur étude. Un autre travail de Lei et Al [15] indique que les cellules T CXCR5+CD4+ des patients atteints hépatite B chronique exprimaient un niveau plus élevé de molécules d'activation et de cytokine par rapport à un groupe témoin. Cette suractivation est responsable d'une capacité accrue des cellules T à coopérer avec les cellules B qui vont sécréter des anticorps, ce qui pourrait être corrélé avec l'inflammation du foie et la production d'auto-anticorps dans les manifestations extra-hépatiques. Plusieurs auto-anticorps, dont les anticorps antinucléaires, ss-A, ss-B, Scl-70, Jo-1, étaient effectivement positifs chez 65% des patients VHB.

Plusieurs études ont rapporté une séroprévalence élevée des marqueurs de l'infection par VHB chez des patients porteurs de maladies auto-immunes spécifiques. Csepregi et al [16] rapportent une séroprévalence de 16%, de marqueurs sérologiques de l'infection par le VHB (Ag HBs, Ag HBe, anti-HBc, anti-HBe) chez 80 patients remplissant les critères diagnostiques de la polyarthrite rhumatoïde avant l'initiation d'un traitement médicamenteux à base d'immunosuppresseurs. Tomer et Yaron ont constaté que la fréquence de la thyroïdite d'Hashimoto était multipliée par trois chez les patients atteints du syndrome de Down porteurs de l'AgHBs par rapport à ceux atteints du syndrome de Down et qui sont AgHBs négatifs [17]. Enfin, Ziegenfuss et al [18] ont retrouvé l'AgHbs dans les sérums de 9 parmi 19 patients atteints de Lupus érythémateux disséminé.

L'IFN- α est actuellement le traitement le plus efficace de l'infection chronique par le VHB, mais il comporte un effet secondaire potentiellement grave, à savoir l'induction de phénomènes auto-immuns allant de l'apparition d'auto-anticorps à une maladie auto-immune manifeste, comme la thyroïdite, le lupus érythémateux systémique, l'anémie hémolytique et la polyarthrite [19]. Cependant, dans le cadre de notre étude, la quasi-totalité des patients positifs pour les anticorps anti-Hbc totaux étaient des adultes. Chez l'adulte, la tendance du VHB vers la chronicité est fortement limitée. Seulement 5% des sujets adultes contractant le VHB développent une infection chronique [13]. L'interféron alpha, n'étant indiqué que lors des formes chroniques inflammatoires de l'infection par le VHB [13], est donc faiblement prescrit chez les sujets de notre étude. La forte

séroprévalence des anticorps antinucléaires, que nous avons retrouvé chez les patients ayant déjà été exposés au VHB par rapport au groupe témoin, est donc très faiblement imputable à la prise d'IFN- α . Dans un contexte similaire, Gregorio et al [20] ont étudié les effets du traitement par l'IFN- α sur la prévalence d'un panel d'auto-anticorps dans l'infection par le VHB et ont conclu que les auto-anticorps sont communs dans l'infection par le VHB sans être influencés par l'IFN- α .

5 CONCLUSION

Nous avons déduit une association significative entre l'exposition au VHB et la production d'anticorps antinucléaires, sans prédominance d'un aspect de fluorescence précis. Notre étude, en corrélation avec diverses données bibliographiques, affirme une association établie entre le VHB et diverses atteintes auto-immunes. À la lumière de toutes ces considérations, des études supplémentaires sont nécessaires pour clarifier le rôle réel de l'infection par le VHB dans l'induction d'une auto-immunité cliniquement significative, et pour identifier d'autres troubles auto-immuns dans lesquels la présence concomitante du VHB pourrait éventuellement être impliquée dans la pathogenèse. La recherche et la prise en considération d'une composante auto-immune lors des infections par le VHB, permettra d'élargir le champ de prise en charge et d'optimiser le traitement et le suivi des patients infectés.

REFERENCES

- [1] Gershwin ME, Tsokos GC. *The Autoimmune Diseases*. Elsevier Science; 2019. 1534 p.
- [2] Auto-immunité et médecine personnalisée - ScienceDirect [Internet]. [Cité 2 janv 2022]. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0248866320303131?via%3Dihub>.
- [3] Smatti MK, Cyprian FS, Nasrallah GK, Al Thani AA, Almishal RO, Yassine HM. Viruses and Autoimmunity: A Review on the Potential Interaction and Molecular Mechanisms. *Viruses*. 19 août 2019; 11 [8]: E762.
- [4] Zignego AL, Piluso A, Giannini C. HBV and HCV chronic infection: autoimmune manifestations and lymphoproliferation. *Autoimmun Rev*. déc 2008; 8 [2]: 107-11.
- [5] Sansonno L, Tucci FA, Sansonno S, Lauletta G, Troiani L, Sansonno D. B cells and HCV: an infection model of autoimmunity. *Autoimmun Rev*. déc 2009; 9 [2]: 93-4.
- [6] Ferri S, Muratori L, Lenzi M, Granito A, Bianchi FB, Vergani D. HCV and autoimmunity. *Curr Pharm Des*. 2008; 14 [17]: 1678-85.
- [7] Vergani D, Mieli-Vergani G. Autoimmune manifestations in viral hepatitis. *Semin Immunopathol*. janv 2013; 35 [1]: 73-85.
- [8] Hépatite B : mieux la connaître pour mieux la traiter. *Journal de pédiatrie et de puériculture*. 2006; 19 [8]: 340-3.
- [9] Kappus MR, Sterling RK. Extrahepatic Manifestations of Acute Hepatitis B Virus Infection. *Gastroenterol Hepatol [N'Y]*. févr 2013; 9 [2]: 123-6.
- [10] Nosal RS, Superville SS, Varacallo M. Biochemistry, Antinuclear Antibodies [ANA]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island [FL]: StatPearls Publishing; 2022 [cité 25 janv 2022]. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537071/>.
- [11] Pashnina IA, Krivolapova IM, Fedotkina TV, Ryabkova VA, Cheresheva MV, Churilov LP, et al. Antinuclear Autoantibodies in Health: Autoimmunity Is Not a Synonym of Autoimmune Disease. *Antibodies [Basel]*. 25 févr 2021; 10 [1]: 9.
- [12] Hepatitis B Virus Resources for Health Professionals | CDC [Internet]. 2021 [cité 6 janv 2022]. Disponible sur: <https://www.cdc.gov/hepatitis/hbv/profresourcesb.htm>.
- [13] Training Modules on Hepatitis B and C Screening, Diagnosis and Treatment [Internet]. [cité 6 janv 2022]. Disponible sur: <https://www.who.int/publications-detail-redirect/9789290227472>.
- [14] Li B-A, Liu J, Hou J, Tang J, Zhang J, Xu J, et al. Autoantibodies in Chinese patients with chronic hepatitis B: Prevalence and clinical associations. *World J Gastroenterol*. 7 janv 2015; 21 [1]: 283-91.
- [15] Lei Y, Hu T, Song X, Nie H, Chen M, Chen W, et al. Production of Autoantibodies in Chronic Hepatitis B Virus Infection Is Associated with the Augmented Function of Blood CXCR5+CD4+ T Cells. *PLOS ONE*. 9 sept 2016; 11 [9]: e0162241.
- [16] Csepregi A, Nemesanszky E, Rojkovich B, Poor G. Rheumatoid arthritis and hepatitis B virus: evaluating the pathogenic link. *The Journal of Rheumatology*. 1 mars 2001; 28 [3]: 474-7.
- [17] Tomer Y, Villanueva R. Infection and Autoimmune Thyroid Diseases. In: *Infection and Autoimmunity*, 2nd edition [Internet]. Elsevier; 2004 [cité 6 janv 2022]. p. 515-30. Disponible sur: <http://www.scopus.com/inward/record.url?scp=84882892627&partnerID=8YFLogxK>.
- [18] Ziegenfuss JF, Byrne EB, Stoloff IL, Burka ER. Australia antigen in systemic lupus erythematosus. *Lancet*. 8 avr 1972; 1 [7754]: 800.
- [19] Maya R, Gershwin ME, Shoenfeld Y. Hepatitis B Virus [HBV] and Autoimmune Disease. *Clinic Rev Allerg Immunol*. 1 févr 2008; 34 [1]: 85-102.
- [20] Gregorio GV, Jones H, Choudhuri K, Vegnente A, Bortolotti F, Mieli-Vergani G, et al. Autoantibody prevalence in chronic hepatitis B virus infection: effect in interferon alfa. *Hepatology*. Sept 1996; 24 [3]: 520-3.