

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Jijel
Faculté des sciences
Département de Biochimie

جامعة محمد السادس بن يحيى
كلية علوم الطبيعة والحياة
المدى : 624
رقم الجرد :

MB. 12/05

Mémoire



01/09

En vue de l'obtention d'un Diplôme d'Etudes Supérieures (D.E.S)
Option : Microbiologie

Thème

**Intérêt du Dépistage de l'Hépatite
Virale B par la Méthode ELISA
chez les Donneurs de Sang**

Membres de jury :

Président : Zine Cherif

Examineur : Bouhafs Leïla

Promoteur : Laayeb Said

Réalisé par :

M^{lle}. Chelgham Karima

M^{lle}. Cheriti Hala

M^{lle}. Zeghouane Atidel



Promotion : 2005

Remerciements

*Seigneur tout puissant, merci de nous avoir éclairé la route, tu
nous a toujours guider vers le*

Droit chemin et tu a fais qu'aujourd'hui nous en sommes là.

*Monsieur LAIB merci d'avoir accepter d'encadrer notre travail,
merci pour votre dévouement, et vos conseils précieux,*

*Un grand merci à toute l'équipe du « PIS » poste de transfusion
sanguine de Jijel ;*

Karima, Rédah, Fadia ;

Pour leurs qualités humaines et professionnelles ;

Merci à Melle Bouhafce d'accepter d'examiner notre travail

Merci à Monsieur Zine de présider notre jury

*Nous exprimons, enfin, nos vives reconnaissances à tous ce qui,
de près ou de loin, ont*

Contribués à l'élaboration de ce Mémoire

Dédicace

A l'âme de mon Père ...

Karima

Dédicace

*Qui que vous soyez , si vous êtes pensifs en lisant ,
c'est à vous que je dédie ce travail .*

Hafa .

Dédicace

A mes parents, en témoignage de mon grand amour pour eux, de mon respect, et de mes reconnaissances pour tout leur amour, leur courage, et leur patience, que dieu leurs prête une longue vie.

A mon frère, mes sœurs, mes nièces et mes neveux pour leurs encouragements et pour l'ambiance sympathique dont ils m'ont entouré,

A tous mes oncles et mes tantes, à tous mes cousins et cousines.

A mes camarades et partenaires dans ce travail Hala, Karima.

A tous mes amis pour leurs encouragements et leurs soutiens inconditionnel morale ou matérielle.

A vous tous, à tous ceux qui m'aiment je dédie ce modeste travail.

Atidel

Liste des abréviations

VHB	: Virus de l'Hépatite B
VHC	: Virus de l'Hépatite C
VHD	: Virus de l'Hépatite D
HIV	: Human Immunodeficiency Virus
HLA	: Human Leucocyt Antigén
Anti	: Anticorps
Ag	: Antigène
KDA	: Kilo Dalton
Kb	: Kilo Base
RIA	: Radio Immuno assay
ELISA	: Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
PCR	: Polymerase Chain Reaction
GOT	: Glutamique Oxaloacétique Transaminase
TGP	: Glutamique Pyruvique Transaminase
ALAT	: Alanine Amino Transférase
ASAT	: Aspartate Amino Transférase
PAL	: Phosphatase Alcaline
BRB	: Bilirubine
TP	: Prothrombine
PBH	: Ponction Biopsie Hépatique
TPHA	: Treponema Pallidum Hémagglutinine

Liste des figures

Figure 01 : Schéma des constituants du VHB	05
Figure 02 : Particules virales du virus de l'hépatite B.....	06
Figure 03 : La carte génétique	07
Figure 04 : La réplication du virus de l'hépatite B.....	08
Figure 05 : Infection auto limitée par le virus HB.....	11
Figure 06 : Infection persistante par le virus.....	12
Figure 07 : Mode de transmission du virus de l'hépatite B.....	15
Figure 08 : Evolution des marqueurs sérologiques d'infection par le VHB au cours d'une hépatite aiguë.....	23
Figure 09 : Démarche du diagnostic étiologique en cas de suspicion d'une hépatite aiguë.....	24
Figure 10 : Evolution des marqueurs sérologiques au cours d'une hépatite chronique.....	30
Figure 11 : Démarche du diagnostic étiologique des infections chroniques.....	30
Figure 12 : Possibilités évolutives de l'hépatite B.....	32
Figure 13 : Principe du test MONOLISA.....	43
Figure 14 : Répartition des donneurs de sang HBs ⁺ selon la forme de l'hépatite (PTS de Jijel, 2005).....	76

Liste des Tableaux

Tableau 01 : Fiche signalétique du virus de l'hépatite B.....03

Tableau 02 : Interprétation des marqueurs sérologiques18

Tableau 03 : Marqueurs sérologiques de l'hépatite aiguë.....23

Tableau 04 : Marqueurs sérologiques de l'hépatite chronique.....29

Tableau 05 : Explication de la démarche de la réaction.....41

Tableau 06 : Résultats sérologique et Biochimique du donneur N°01.....68

Tableau 07 : Résultats sérologique et Biochimique du donneur N°02.....68

Tableau 08 : Résultats sérologique et Biochimique du donneur N°03.....69

Tableau 09 : Résultats sérologique et Biochimique du donneur N°04.....69

Tableau 10 : Résultats sérologique et Biochimique de donneur N°05.....70

Tableau 11 : Résultats sérologiques et Biochimique des cas positifs Annexe

Sommaire

Introduction.....	01
Partie Théorique	
Historique	02
CHAPITRE I: Généralités du VHB	
I-1 VHB.....	03
I-1-1 Généralités.....	03
I-1-2 Classification et description.....	03
I-2 Structure.....	04
I-2-1 Eléments constitutifs du VHB.....	04
I-2-2 Variétés des particules virales.....	06
I-3 Organisation génétique du VHB.....	06
I-3-1 Structure de l'ADN.....	06
I-3-2 La carte génétique.....	07
I-3-3 Les régions codantes.....	07
I-4 Multiplication.....	08
I-4-1 Le cycle cellulaire du virus de l'hépatite B.....	08
I-4-2 Transcription du génome virale.....	09
I-5 Variabilité du génome virale.....	10
I-6 Tropisme cellulaire.....	10
II Pouvoir pathogène du VHB.....	10
II-1 Infection auto limitée.....	10
II-2 Infection chronique.....	11
III Signes cliniques.....	12
III-1 Hépatite aiguë	12
III-2 Hépatite chronique.....	13
IV Epidémiologie.....	13
IV-1 Modes de transmission.....	13

IV-2 Répartition géographique.....	15
Chapitre II: Dépistage et Diagnostic	
I- Outils de dépistage et de diagnostic de l'hépatite B.....	17
I-1 Système Ag- Ac HBs	18
I-2 Examens biochimiques complémentaires.....	20
I-3 Ponction biopsie hépatique.....	20
II Dépistage et diagnostic de l'hépatite virale B.....	21
II-1 Hépatite aiguë	21
II-1-1 Diagnostic clinique du VHB.....	21
II-1-2 Diagnostic biochimique.....	22
II-1-3 Diagnostic sérologique.....	22
II-2 Hépatite fulminante.....	25
II-2-1 Symptomatologie.....	25
II-2-2 Evolution.....	25
II-3 Hépatite chronique.....	26
II-3-1 Définition.....	26
II-3-2 Fréquence.....	26
II-3-3 Différents types d'hépatite chronique.....	27
II-4 Symptomatologie.....	28
II-4-1 Diagnostic clinique du VHB.....	28
II-4-2 Diagnostic biochimique du VHB.....	28
II-4-3 Diagnostic sérologique.....	28
III Complication.....	31
III-1 Complication de l'hépatite aiguë	31
III-2 Complication de l'hépatite chronique.....	31
IV Co-infection par le VHD.....	33

Chapitre III : Traitement

I Traitement curatif.....	34
II Prophylaxie.....	35
II-1 Vaccination.....	35
II-2 Immunisation passive contre l'hépatite B.....	36

Partie Pratique

I Matériels et méthodes.....	38
I-1 MONOLISA Ag HBs plus.....	40
I-1-1 Intérêt clinique.....	42
I-1-2 Principe du test MONOLISA Ag HBs plus	42
I-1-3 Matériels nécessaires.....	43
I-1-4 Réactifs utilisés.....	43
I-1-5 Mode opératoire.....	44
I-2 ELISA Pasteur- Genscreen HIV ½	45
I-2-1 Intérêt clinique	45
I-2-2 Principe.....	45
I-2-3 Matériels nécessaires.....	46
I-2-4 Réactifs utilisés.....	46
I-2-5 Mode opératoire.....	47
I-3 ELISA Murex- ABBOT anti-HCV.....	48
I-3-1 Principe	48
I-3-2 Réactifs	49
I-3-3 Matériels Nécessaires.....	50
I-3-4 Mode opératoire.....	51
I-4 Murex TPHA.....	52
I-4-1 Principe.....	52

I-4-2 Matériels nécessaires.....	52
I-4-3 Réactifs utilisés.....	53
I-4-4 Mode opératoire.....	53
I-5 Biochimie.....	54
I-5-1 Alanine Aminotransférase (ALAT) TGP.....	54
I-5-2 Aspartate Amino transférase (ASAT) TGO.....	58
I-5-3 Dosage de la phosphatase alcaline.....	61
I-5-4 Dosage de la Bilirubine.....	64
II Résultats et Interprétation.....	68
II-1 Résultats.....	68
II-2 Interprétation	70
III Discussion	74
Conclusion.....	77
Références Bibliographiques.....	78

Introduction

Introduction

Toute infection peut s'accompagner d'anomalies biologiques hépatiques. Le terme «hépatite virale » doit être réservé aux maladies associées aux virus ayant un véritable hépatotropisme avec comme manifestation prédominante une hépatite clinico-biologique.

Les hépatites virales apparaissent ainsi aujourd'hui comme un problème majeur de santé publique, rien que pour le virus de l'hépatite B (HBV), on compte dans le monde plus de 400 millions de porteurs, dont environ 25% développe ou développera une hépatite chronique active. Plus de 1 million de personnes meurent chaque année de cirrhose ou d'hépatocarcinome causé par le HBV. Cette évolution se fait à bas bruit et très lentement, sur une vingtaine d'années, voir plus après la contamination.

Le diagnostic de l'hépatite virale B repose essentiellement sur des méthodes immunologiques (mise en évidence d'antigènes HBs) ou de biologie moléculaire (mise en évidence des génomes viraux).

Le but de cette étude a été principalement de résumer les données récemment acquises sur l'épidémiologie, le diagnostic, l'évolution et le traitement de l'hépatite virale B. Le pari est dorénavant double : progresser dans les prises en charges des donneurs de sang et accélérer les possibilités prophylactiques par l'intensification de dépistage de l'Ag - HBs qui sera l'arme essentielle, d'autant plus qu'il existe contre l'HBV et de limiter la diffusion de ce virus au sein de la population de la wilaya de Jijel en particulier.

Partie Théorique

Historique

Historique :

C'est en 1938 qu'ont été rapportés les premiers cas d'hépatites ictériques liés à la transmission d'un agent infectieux chez les sujets vaccinés contre la fièvre jaune à l'aide d'un vaccin contenant du sérum humain.

L'existence du VHB fut confirmée par la survenue, pendant la deuxième guerre mondiale, de plusieurs milliers de cas d'hépatites, dont une cinquantaine mortels, chez des soldats de l'armée américaine ayant reçu un vaccin préparé avec un sérum humain contenant le virus.

La distinction claire entre les hépatites liées au virus A et celles liées à ce nouvel agent a été faite par S. Kroogman qui inocula les virus à des handicapés mentaux séjournant dans une institution spécialisée américaine et constata qu'il n'existait pas d'immunisation croisée entre les deux infections.[03]

En 1964, B.S. Blumberg découvre dans le sérum d'un malade hémophile un anticorps (Ac) particulier qui se révèle capable de réagir avec un antigène (Ag) présent dans le sang d'un aborigène Australien.

Des lors, il se lance dans une grande enquête destinée à identifier cet Ag- Australia. Ces découvertes lui vaudront le prix Nobel de médecine et de physiologie en 1976. [13, 16]

Prince démontre en 1968, le lien entre l'Ag de surface de l'hépatite B (AgHBs) (ex Australia) et l'hépatite sérique. A cette même année, Bayes décrit dans le sérum d'un sujet atteint d'hépatite B (HB), des particules polymorphes (billes et bâtonnets).

1970, « Dane » découvre le virion infectieux de l'HB (un troisième type de particules), appelé particule de « Dane ».

L'année qui suivit, 1971, Almeida décrit le noyau de la particule de « Dane » (l'Ag nucleocapsidique du VHB (Ag HBc) et son Ac anti- HBc).

En 1973, on rapporte la présence de l'enzyme « DNA- polymérase » dans la particule de « Dane ».

Le génome du VHB a été cloné et séquencé. Son organisation génétique et son mode de répllication de type rétroviral ont été mis en évidence. [20]

Chapitre I
Généralités du VHB

I-1- VHB :

Il est responsable de ce que l'on appelait auparavant hépatite sérique ou hépatite d'inoculation, dont l'incubation est longue (90 jour en moyenne). [45]

I-1-1- Généralités :

Le VHB est un virus à ADN dont l'incubation varie de 1 à 3 mois. La connaissance des différents Antigènes viraux (Antigène de la surface ou Antigène HBs, Antigène du « core » ou Ag HBc et l'Ag HBe) permet de mieux analyser les résultats sérologiques. [16]

I-1-2- Classification et description :

Le virus de l'hépatite B est un virus à ADN de la famille des hépadnavirus, cette dernière à été reconnue par le comité international de taxonomie des virus, cette famille comprend :

- le virus de l'hépatite B humaine ou VHB, considéré comme le prototype de cette famille.
- La forme complète, circulante, infectieuse du VHB s'appelle particule de « Dane ».

C'est une particule sphérique de 42 à 47 nm de diamètre. [16]

Tableau 01 : fiche signalétique du virus de l'hépatite B. [27]

Virus de l'hépatite B	
Acide nucléique	: ADN Circulaire Partiellement Monocaténaire
Symétrie de la capsid	: indéterminée
Enveloppe	: complexe
N° de capsomères	: indéterminée
Diamètre du virion	: 42 nm
PM de l'acide nucléique	: $20 \cdot 10^6$
Famille	: hepadnaviridae

Les particules de « Dane » représentent le virus complet tandis que les sphères et les tubules correspondent à l'enveloppe (autrefois appelée Ag Australia).

C'est un virus complexe dont certaines propriétés (mode de réplication et possibilité d'intégration dans le génome cellulaire) le rapprochent des Rétrovirus [45]

I-2- Structure :

I-2-1- Elément constitutifs du VHB :

La structure du virus est complexe. En microscopie électronique, on observe trois types d'éléments l'un sphérique, l'autre en bâtonnet, le troisième en cocarde.

Ces éléments contiennent plusieurs structures antigéniques :

- L'Antigène HBs (surface) « Ag HBs » intéresse les structures sphériques, en bâtonnet et l'enveloppe de la structure en cocarde ;
- L'Antigène HBc (cœur) « Ag HBc » concerne le centre de la structure cocarde ;
- L'Antigène HBe « Ag HBe » est une sous unité.

Ces systèmes Ag-AC sont très importants pour la surveillance sérologique des malades. [28,45]

Le virus du VHB est constitué de l'intérieur vers l'extérieur, de trois structures :

➤ *Le génome :*

C'est un ADN circulaire qui n'est que partiellement double brin (c'est-à-dire que le brin complémentaire n'est présent que sur une partie de la circonférence du génome). Il comporte environ 3200 nucléotides sur son brin long, qui concentrent l'ensemble de l'information génétique du virus, et 2700 à 2800 nucléotides sur son brin court. [03]

➤ *La capside :*

C'est une coque protéique qui entoure et protège le génome viral. Elle est formée par la polymérisation de la protéine de capsid C, qui porte le déterminant antigénique HBc (antigène HBc), lequel n'est jamais détecté sous forme libre dans la circulation. Il peut en revanche être mis en évidence dans les hépatocytes où la protéine est fabriquée pour être intégrée à de nouvelles capsides virales. [03]

➤ *L'enveloppe :*

C'est une double couche lipidique qui contient la capsid. A sa surface sont insérées trois protéines de taille croissante ayant toutes une partie commune :

- La protéine majeure (protéine S), qui porte le déterminant antigénique HBs (antigène HBs) ;
- La protéine moyenne (protéine M), qui porte les déterminants antigéniques HBe et pré-S2 ;

- La grande protéine (protéine L), qui porte les déterminants antigéniques HBs, pré-S₂ et pré-S₁. [03]

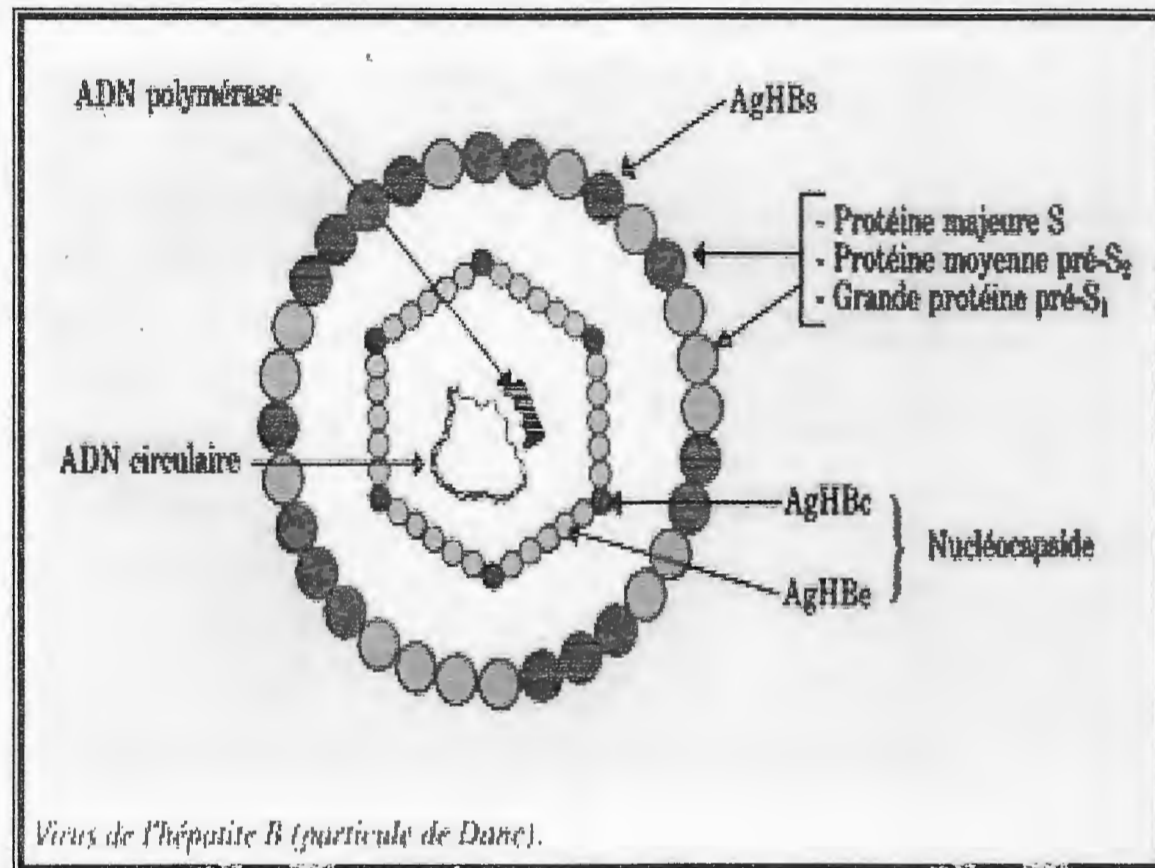
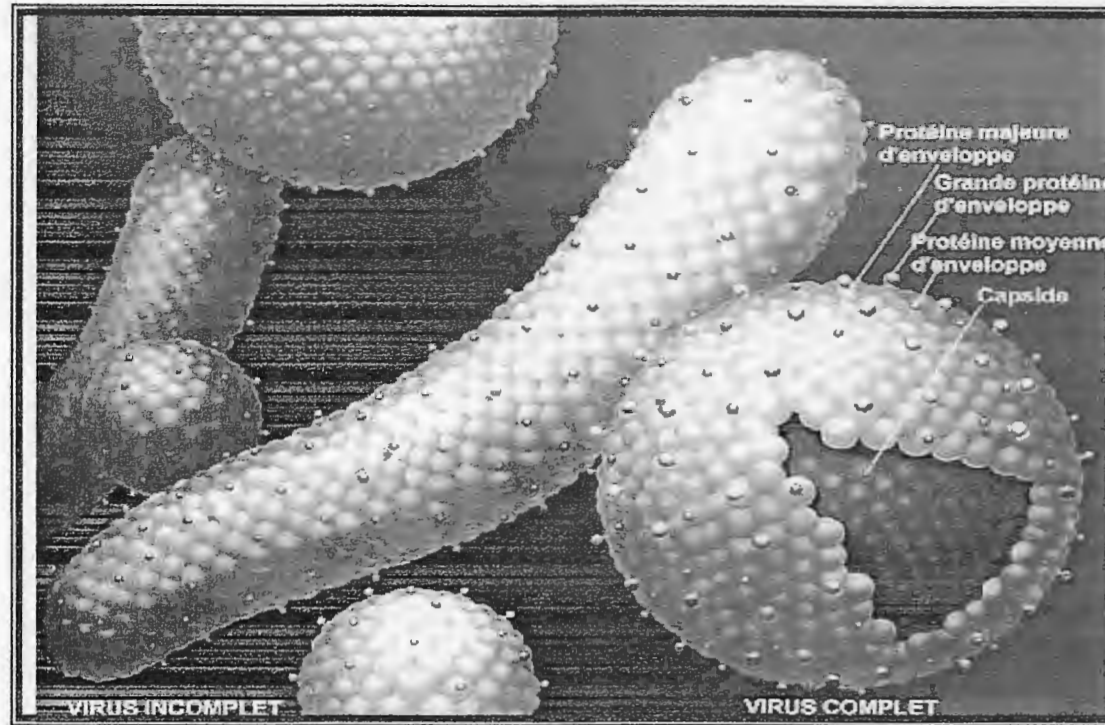


Figure 01 : Schéma des constituants du VHB

I-2-2- Variétés des particules virales :

La microscopie électronique permet d'identifier trois types de particules dans le sérum humain infectieux : le virion, les sphères et les filaments. le virion, ou particule de « Dane » représente la particule infectieuse, il a un diamètre de 42 nm et comprend une enveloppe composée des Ag de surface et une nucléocapside (isocédrique de 27 nm) portant les Antigènes de capside et contenant l'ADN viral et l'ADN polymérase virale. Les sphères de 22 nm de diamètre et les filaments sont constitués par les protéines d'enveloppe et en large excès par rapport aux virions. Ces enveloppes vides, dépourvues d'ADN ne sont pas infectieuses et entraînent une immunisation anti- HBs. [07,44]

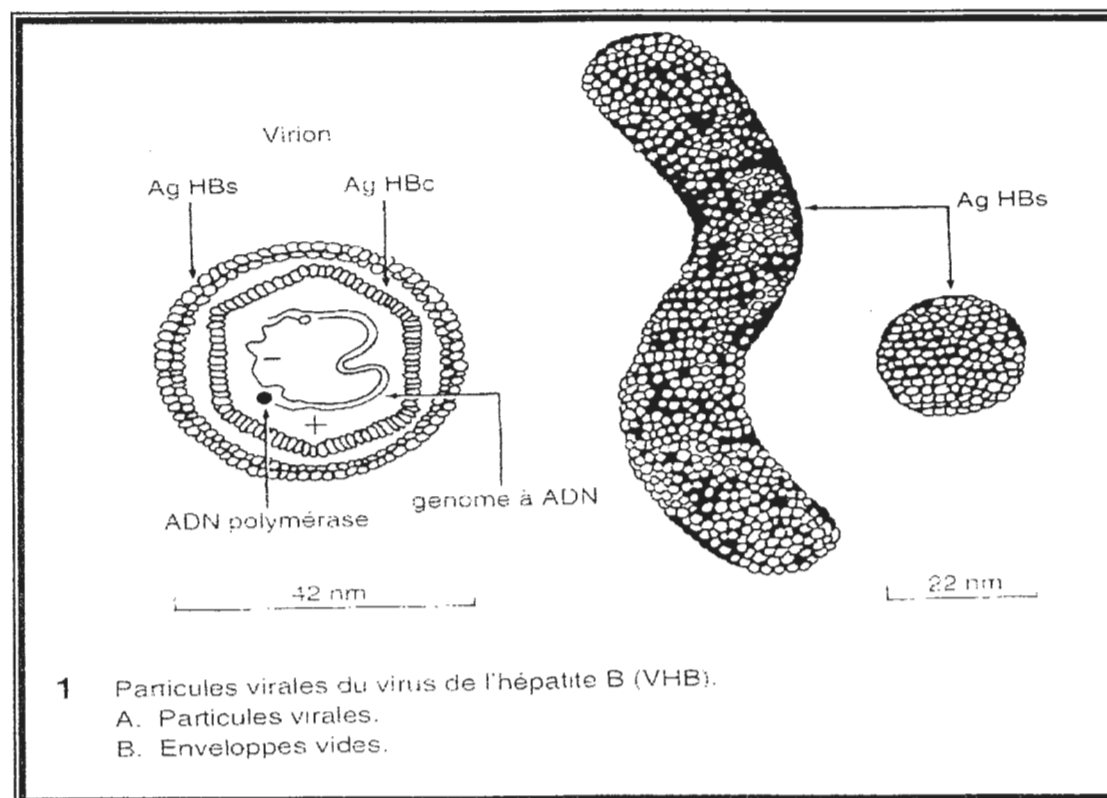


Figure 02 : Particules Virales du Virus de l'Hépatite B. [01]

I-3- Organisation génétique du VHB

I-3- 1- Structure de l'ADN :

Le VHB est un virus à ADN circulaire, partiellement bicaténaire d'environ 3200 nucléotides (Figure 03). L'ADN du virion est formé par un brin (-) codant de longueur constante et d'un brin court (+) de longueur variable (50 à 100) de la taille du génome. L'ADN peut être rendu totalement bicaténaire sous l'action de l'ADN polymérase virale endogène contenu dans la nucléocapside virale.

Le maintien de la forme circulaire de l'ADN est assuré par l'appariement des extrémités 5' des deux chaînes sur une longueur de 200 nucléotides appelée région cohésive. Une protéine, la polymérase virale, et un oligoribonucléoside sont attachés en 5' du brin (-) et du brin (+), respectivement (Figure 03). [01]

I-3-2 -La carte génétique :

La carte génétique du VHB a pu être établie en comparant les différentes séquences des génomes clonés (Figure 03). Le brin (-) contient quatre phases de lecture ouvertes correspondant aux régions codantes pour les protéines virales. Seul le brin (-) est codant, les quatre régions codantes (c, p, x et s) se chevauchent du fait de l'organisation compacte du génome viral. [01]

I-3-3 -Les régions codantes :

- La région C est composée du gène C qui code pour une protéine de capsid HBc et d'une région pré-C impliquée dans la synthèse de l'Ag HBc circulant.
- La région P recouvre 80% du génome et code pour une protéine d'environ 90 KDA ; L'ADN polymérase virale.
- La région S code pour des protéines d'enveloppe, elle est composée du gène S, de la région pré-S₁ et de la région pré-S₂. le gène S code pour l'antigène de surface HBs et les régions pré-S et S pour les antigènes de surface pré-S₂ et pré-S₁
- La région x code pour une protéine de 17KDA dont le rôle est peu connu. [1,16, 30].

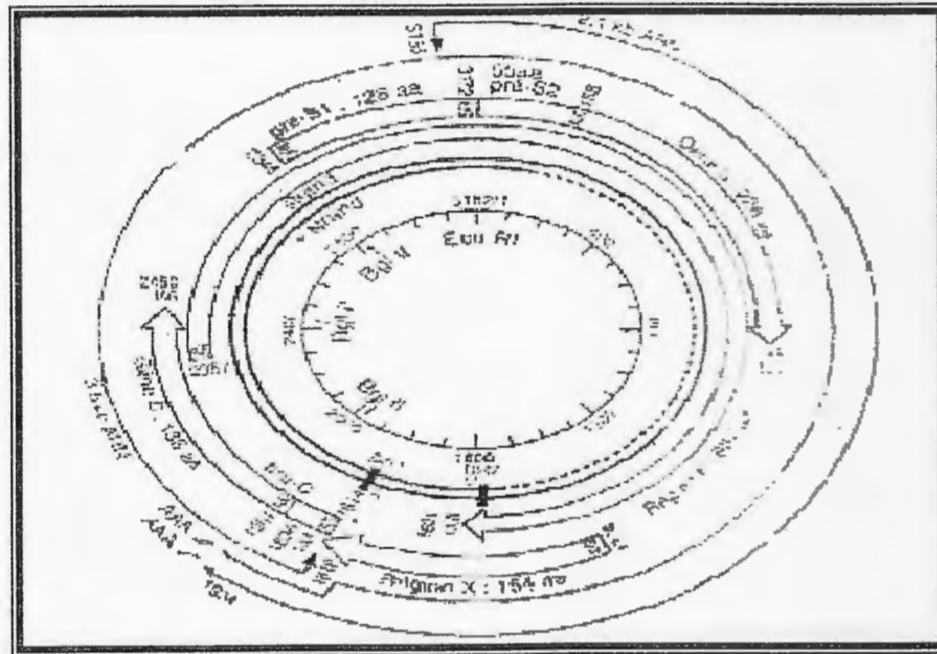


Figure 03 : carte génétique. [06]

1-4- Multiplication :

1-4-1- Le cycle cellulaire du virus de l'hépatite B :

Le virus de l'hépatite B a un tropisme essentiellement hépatique. Une localisation extra-hépatique a cependant été mise en évidence (principalement dans les cellules mononuclées sanguines). Dans son mode de répllication et contrairement aux autres virus à ADN infectants l'homme, le HBV s'appuie sur un intermédiaire de répllication qui est une molécule d'ARN pré génomique. C'est donc un virus à ADN qui se rapproche des rétrovirus classiques par sa polymérase qui possède une activité de transcription inverse. [01 ,04]

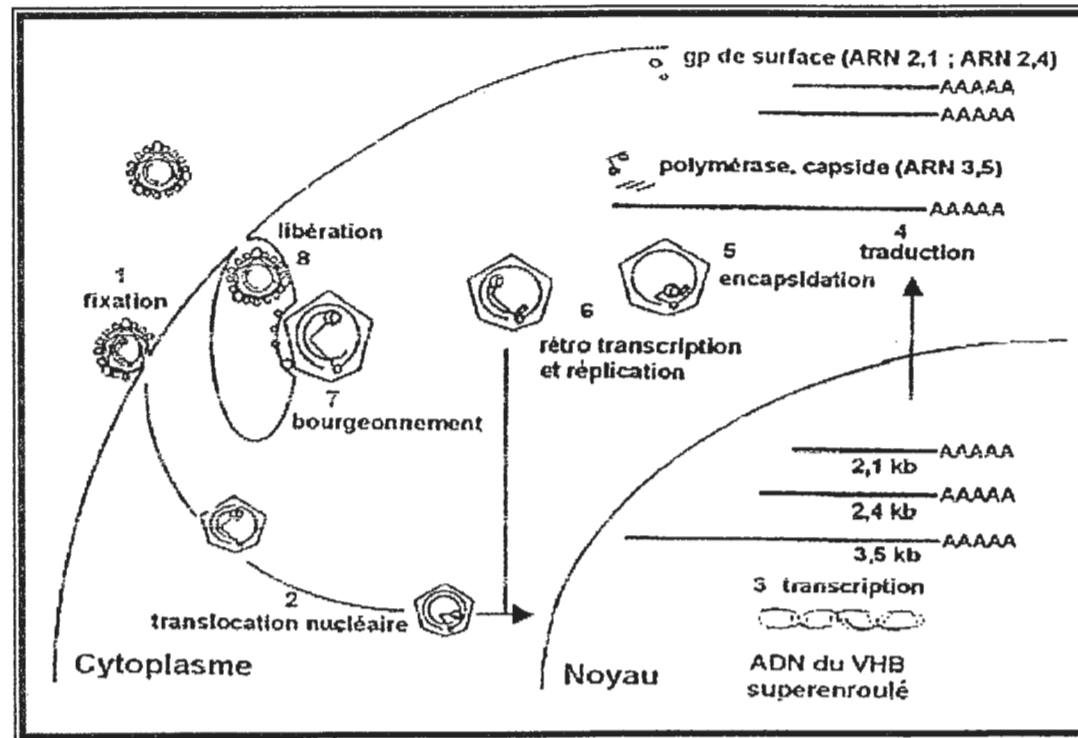


Figure 04 : La répllication du virus de l'hépatite B .[05]

(C : cytoplasme, N : noyau)

- 1- après fixation sur un récepteur dont la nature est encore en discussion et pénétration, il y a migration des nucléocapsides vers le noyau.
- 2- le génome viral y est relargué.
- 3- il acquiert une configuration circulaire superenroulée associée à des histones et une capacité transcriptionnelle.
- 4- les ARN transcrits seront traduits en protéines dans le cytoplasme de l'hépatocyte (2 protéines différentes à partir du gène de la capsid, 3 formes différentes à partir du gène des protéines de surface, la polymérase virale et la protéine X).

5- un ARN viral pré génomique est encapsidé par 240 molécules de protéines de capsidie associées à la polymérase. Le complexe incorpore une protéine kinase cellulaire.

6- la réplication intracytoplasmique a lieu dans ces capsides en formation. La polymérase virale synthétise par transcription inverse le brin complémentaire négatif d'ADN (brin long) puis initie à partir de l'extrémité 5' de l'ARN pré génomique (non encore dégradé par l'activité RNase H de la polymérase) , la synthèse du brin complémentaire (brin court) pour aboutir à l'ADN circulaire partiellement double brin qui constitue le génome du virus. La protéine kinase cellulaire phosphoryle les protéines de capsidie au fur et à mesure de la synthèse de l'ADN viral et de l'élimination de l'ARN proviral.

7- la nucléocapsidie virale bourgeonne à travers les membranes de l'ergastoplasme où sont présentes les différentes formes des protéines de surfaces (en particulier la petite protéine appelée protéine majeure).

8- les virus sont sécrétés sans lyser la cellule productrice. Le HBV représente pour les virus à ADN un modèle en miroir des rétrovirus. Cependant l'intégration de l'ADN viral dans l'ADN cellulaire n'est pas indispensable au cycle viral ; elle peut cependant survenir en particulier lors d'infection chronique. [05]

I-4-2-Transcription du génome viral :

4 promoteurs gèrent la transcription du génome viral et 2 régions activatrices de transcription (dont une spécifique du tissu hépatique) sont décrites :

- Le promoteur du gène C donne naissance à 2 transcrits. Le plus long s'initie avant l' AUG de la région pré C et code pour le polypeptide des phases pré-C/C (qui porte l'antigène HBe).
- Le second transcrit de 3,5 kb, initié l'AUG du pré-C, a 3 fonctions :
 - Il code pour la protéine de capsidie (qui porte l'antigène HBc)
 - Pour la polymérase (site d'entrée interne pour le ribosome)
 - Et sert de molécule pré génome dans les capsides en formation. On remarque que les constituants de la nucléocapsidie virale dépendent tous d'un seul ARN.
- Deux promoteurs sont concernés dans l'expression des ARN des phases pré-S1, pré S2 et S. la grande protéine (pré-S1/ pré S2 / S) est traduite à partir d'un ARN de 2,4 kb. En revanche, plusieurs sites d'initiation de transcription des gènes qui codent pour les moyennes et petites protéines initient la synthèse des ARN de 2,1 kb majoritairement initiés en aval de l'AUG de la protéine moyenne.
- La protéine X est codée par un ARN de 0,8 kb mis en évidence dans des lignées transfectées par le génome viral et chez les souris transgéniques. [01, 04]

I-5-Variabilité du génome virale :

Pendant longtemps, l'importance de la variabilité du génome du VHB est restée insoupçonnée en raison de la complexité et de l'organisation très compacte du génome viral. [01]

Il existe différents sous types du VHB correspondant à une variabilité dans les épitopes de l'antigène de surface. Cette variabilité est définie par une hétérogénéité du génome viral. Cette divergence génomique a permis de regrouper les différentes souches du VHB en 6 (de A à F) types génomiques ou génotypes. [30]

A côté des sous types et génotypes, il faut individualiser l'existence de variants du VHB qui correspondent à l'apparition de mutations ponctuelles ou de délétions voire à des insertions de séquences d'acide nucléiques dans le génome viral au cours de l'infection virale.

La plupart d'entre eux correspondent le plus souvent à ce que l'on appelle des « escapes mutants » ou mutants d'échappement sous la pression immunitaire de l'hôte. [44]

I-6- Tropisme cellulaire :

Une des caractéristiques principales des hépadnavirus est leur hépatotropisme. En effet les antigènes viraux ainsi que l'ADN viral sont retrouvés de façon prédominante dans les cellules hépatiques qui contiennent toutes les formes répliquatives de l'ADN viral.

D'autre part, des séquences d'ADN viral ainsi que des ARN viraux ont pu être détectés dans des cellules extra hépatiques dont les cellules mononuclées du sang et de la moelle. [01]

Ces acides nucléiques viraux sont présents en faible quantité dans ces cellules et il a été suggéré que les lymphocytes puissent représenter un réservoir viral extra hépatique permettant la perpétuation de l'infection virale et l'infection du greffon hépatique chez les patients transplantés pour cirrhose virale B. [1, 44]

II- Pouvoir pathogène du VHB :

L'infection par le virus du VHB peut évoluer sous deux formes soit une infection auto-limitée qui aboutit à l'élimination du virus et à l'établissement d'une immunité solide, soit une infection chronique qui se traduit par la persistance du virus dans l'organisme. [47]

II-1- Infection auto limitée :

Dans l'infection auto-limitée, l'antigène HBs est détecté 3 semaines en moyenne après la contamination et plusieurs semaines avant l'apparition des signes cliniques, il persiste plusieurs mois.

Les particules de Dane, l'ADN polymérase et l'Ag HBe sont détectables ensuite disparaissent au début de la maladie, passent par un maximum puis diminuent très lentement. Les anti-HBs apparaissent très tardivement, après une période de quelques semaines à plusieurs mois après la disparition de l'Ag HBs, ils augmentent puis diminuent progressivement, ils remontent brusquement en cas de réinfection par le virus HB. Parfois les anti-HBs sont détectés en même temps que l'Ag HBs, sous la forme de complexes immuns. Dans certains cas, en particulier dans les hépatites fulminantes, il semble que les anti-HBs soient très précoces et que l'Ag HBs ne soit mis en évidence à aucun moment, au cours de l'infection. [16, 47]

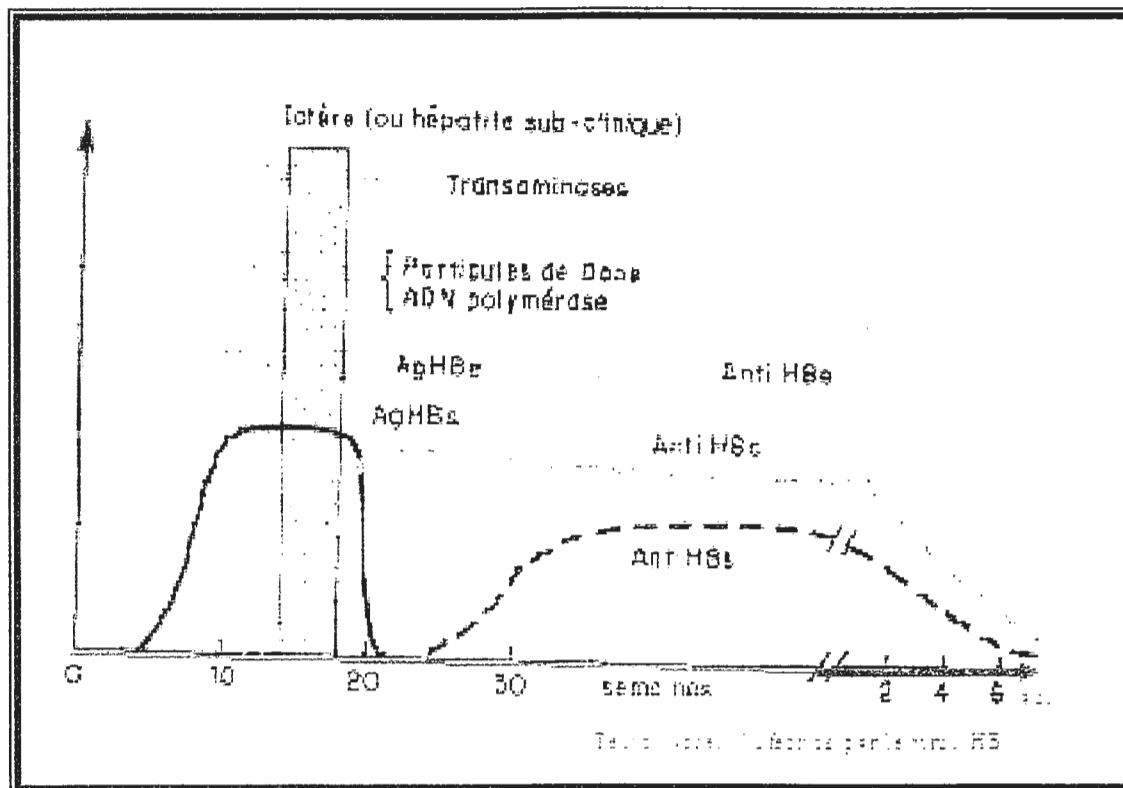


Figure 05 : Infection auto-limitée par le virus HB. [47]

II-2- Infection chronique :

Elle se définit par la persistance dans le sérum, de l'Ag HBs au-delà de 6 mois : la plupart des sujets se trouvant dans ce cas resteront en effet porteurs de l' Ag HBs pendant de longues années, si ce n'est définitivement. Dans le sérum, en plus de l'Ag HBs, on trouve alors de façon constante les anticorps anti-HBc, de façon variable l'Ag HBe ou l'anti-HBe, l'ADN polymérase, le génome viral et des particules de Dane. Il existe sans doute des anti-HBs inclus dans des complexes immuns mais ils sont indétectables du fait du large excès d'antigène. Cet état de portage chronique peut évoluer quelque fois vers la guérison ; il est souvent associé à des lésions chroniques du foie et touche 5 à 10% des sujets infectés : il paraît favorisé entre autres facteurs

par une infection survenant précocement dans la vie, par un déficit immunitaire congénital ou acquis. [47]

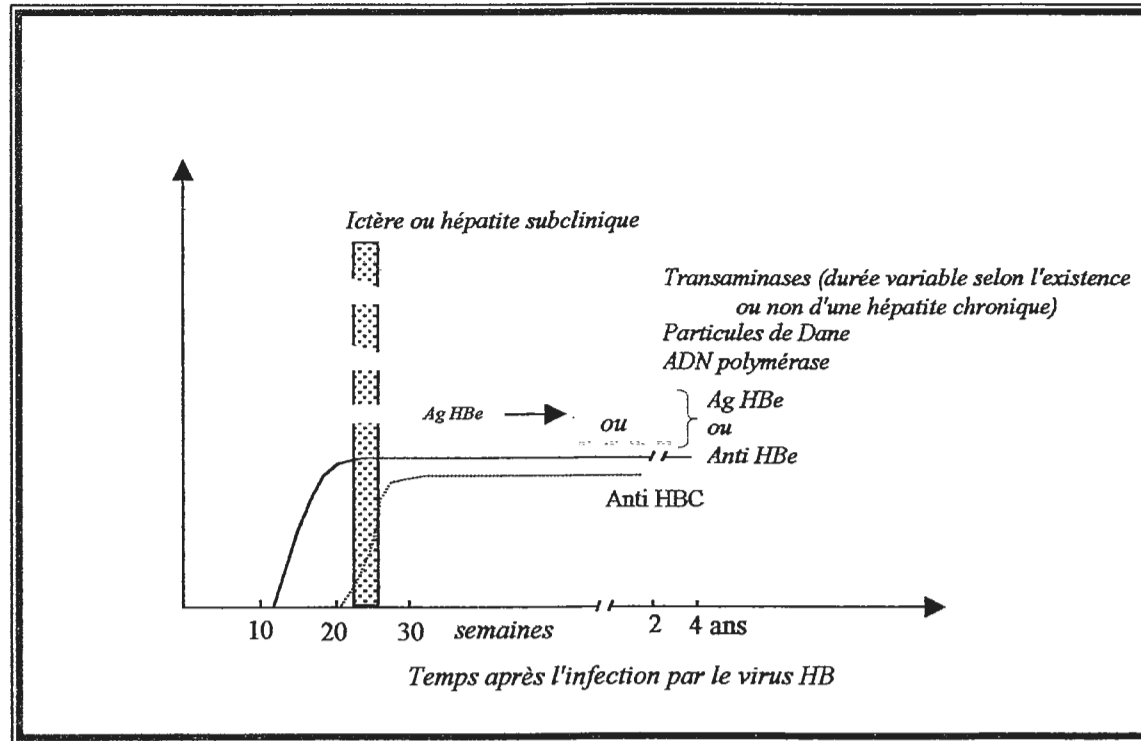


Figure 06 : Infection persistante par le virus. [47]

III- Signes cliniques :

Les manifestations cliniques sont complexes.

III- 1- Hépatite aiguë :

L'incubation est en règle plus longue, 3 mois en moyenne mais elle varie en fonction de l'inoculum allant de 2 semaines à 6 mois. La phase pré-ictérique est plus insidieuse : dans 10 à 20% des cas, surviennent des éruptions érythémato-maculeuses, une urticaire, des arthralgies voire des arthrites spontanément régressives qui paraissent dues aux complexes immuns circulants.

A côté des hépatites aiguës ictériques, existe une majorité de formes inapparentes.

III- 2- : L'hépatite chronique :

Elle apparaît aussi bien dans les suites de l'hépatite aiguë ictérique que de l'hépatite inapparente chez certains patients dont le pourcentage est diversement estimé : cliniquement l'Ag HBs persiste dans le sang au-delà de 6 mois- définition du portage chronique-associé à des anomalies biologiques persistantes de la fonction hépatique. On oppose deux formes ; la plus fréquente, l'hépatite chronique persistante, n'a pas de manifestations cliniques et la ponction biopsie hépatique montre un infiltrat inflammatoire limité aux espaces portes sans fibrose ni nécrose significatives ; son pronostic est relativement bon.

L'hépatite chronique active, au contraire, se caractérise par des signes cliniques divers tels que des ictères récidivants, des arthralgies, une asthénie, une atteinte rénale ; l'histologie révèle une inflammation envahissant les lobules hépatiques avec une nécrose et une fibrose évolutives ; l'évolution vers la cirrhose est quasiment inéluctable ; les signes d'une répllication active du VHB (présence dans le sérum de l'Ag HBe, de l'ADN- polymérase, de particules de Dane), sont un élément péjoratif. [03, 16, 47]

IV – Epidémiologie :

L'épidémiologie des hépatites virales doit être interprétée en fonction des modes de transmission du virus en cause. Pour un virus donné, le risque de transmission et donc la capacité de dissémination dans une population dépendent de facteurs intéressants le virus lui même et ses relations avec l'hôte (infectivité, distribution dans l'organisme et mode d'excrétion dans le milieu extérieur) et de la prévalence des porteurs de virus dans la population considérée. [44]

IV-1- : Modes de transmission :

La transmission du VHB est essentiellement parentérale.

Il faut qu'il y ait :

- Une source (sang ou salive, sperme, selles, urines, sécrétions vaginales contenant le VHB).
- Un mode de contamination (piqûre, contacte sexuel,...).
- Un hôte réceptif (non vacciné...) [46]

Le VHB n'est pas très contagieux mais il est présent en quantité élevée et pendant de longues périodes dans le sang et les sécrétions des sujets infectés, d'où un risque important de transmission.

On peut distinguer trois circonstances principales :

- Transmission par le sang ;
- Transmission sexuelle ;
- Transmission mère enfant ; [45]

➤ Transmission par le sang :

Le mode de transmission est parentéral ou par exposition percutanée : toxicomanie, transfusion sanguine, produits dérivés du sang, accident d'exposition au sang (piqûre), matériel mal stérilisé. De rares cas d'infection post-transfusionnelle restent possibles dans les cas suivants :

- Cas exceptionnels donneurs Ag HBs négatifs mais ayant quand même une faible virémie (ADN du VHB détectable dans le sang, notamment par des techniques d'amplification génomique) ;
- Donneurs prélevés en période d'incubation ou en début de convalescence d'une hépatite aiguë.

La recherche de l'Anticorps anti-HBc (initialement utilisé comme marqueur indirect d'une possible hépatite non A non B) a contribué à diminuer cette dernière éventualité.

On estime qu'en général, seuls les sujets ayant de Ag HBe ou de l'ARN viral B détectables dans le sérum par les méthodes de routine sont susceptibles de transmettre l'infection par voie parentérale.

La concentration du VHB dans le sang est en général élevée. Les extrêmes vont de 10⁷ virions/ml de plasma à 10⁸ virions/ml. Chez les sujets Ag HBe positifs, la virémie est habituellement de l'ordre de 10⁶ virions/ml ; les sujets HBe négatifs ont habituellement une virémie faible ou nulle et sont moins contagieux. En pratique, tous les individus Ag HBs positifs doivent être considérés comme potentiellement contagieux, d'autant qu'en cas d'arrêt de la réplication, une réactivation reste toujours possible chez ces sujets qui n'ont pas fait la séroconversion Ag HBs / anti-HBs.

[01, 46]

➤ Transmission sexuelle :

La transmission sexuelle du VHB est démontrée. La contamination peut se faire de la femme vers l'homme ou de l'homme vers la femme. Elle explique la prévalence élevée des marqueurs du VHB dans le sérum des sujets ayant des partenaires multiples et chez les homosexuels mâles (prévalence cependant moindre depuis les années quatre-vingt en raison de l'usage plus important des préservatifs à cause de l'épidémie du sida). [25,46]

➤ Transmission mère -enfant :

La contamination parentérale est fréquente, notamment dans les pays de forte endémie. La contamination périnatale est très fréquente en Asie du Sud -Est. En Afrique, il existe aussi une contamination horizontale d'enfant à enfant. Il semble exister un passage transplacentaire du VHB qui entraîne une immunotolérance chez les nouveaux nés. Celui-ci devient alors porteur chronique du VHB.

En France, la détection du portage du VHB est obligatoire chez la femme enceinte. Si ce dépistage est positif, une sérovaccination de l'enfant sera réalisée à la naissance. Il n'est pas prouvé que l'allaitement maternel puisse jouer un rôle dans la transmission du VHB. [01, 46]

Il existe aussi d'autres modes de transmission que l'on peut les trouver au niveau des services sanitaires :

- Contamination des instruments médicaux ;
- Transmission de patient à patient ;

Contamination chez le personnel de santé qui ont un risque de contamination plus important et plus élevé par rapport à la population générale (transmission soignant-soigné ou dans le sens inverse). [25]

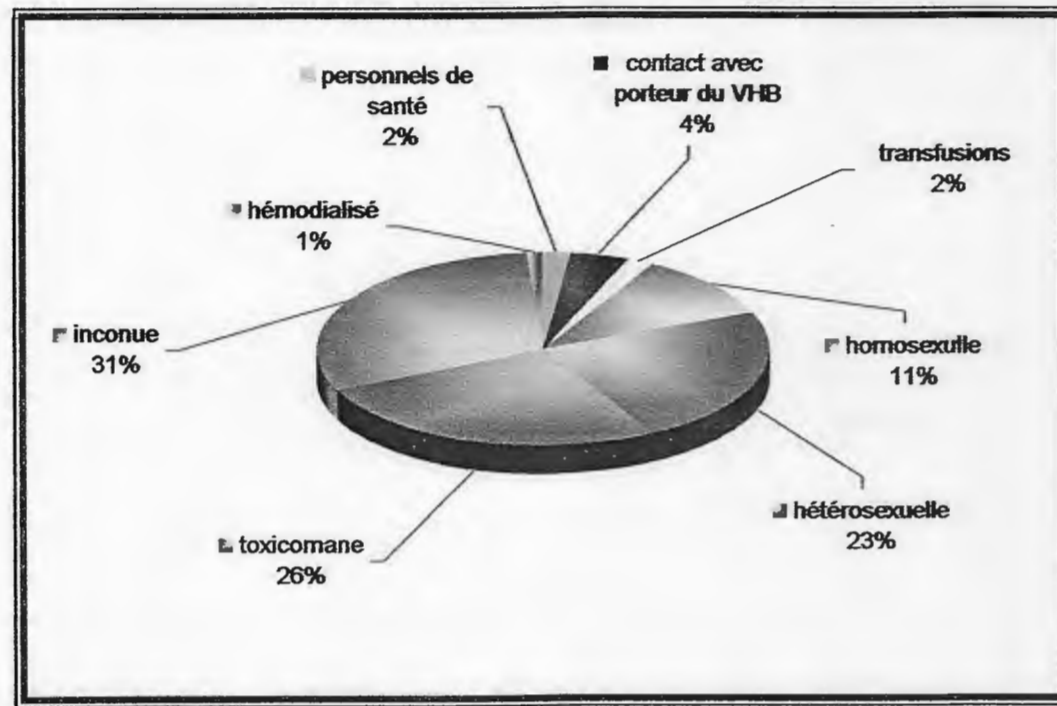


Figure 07 : Mode de transmission du virus de l'hépatite B [08]

IV-2 Répartition géographique :

La répartition géographique de l'infection par le VHB est inégale. En France, la prévalence de l'infection chronique est d'environ 0,3%. on entend par infection chronique la persistance de l'Ag HBs pendant plus de 6 mois après la contamination.

➤ Pays en voie de développement :

Dans les pays en voie de développement (Sud-Est asiatique, Chine, Afrique, Sud Saharienne), le VHB est endémique. L'infection est fréquente chez l'enfant et la prévalence de l'Ag HBs chez l'adulte est de 5 à 20%. Les complications sont habituelles, plusieurs dizaines

d'années après la contamination : hépatite chronique (souvent plus de 10% de la population), cirrhose, cancer, la contamination materno-fœtale est courante.

➤ ***Europe du Nord et Amérique du Nord :***

Dans les pays d'Europe du Nord et en Amérique du Nord, la prévalence de l'infection est faible (de 0.1 à 1% de la population). L'infection survient en général à l'âge adulte et surtout dans des groupes à risque.

➤ ***Europe de l'Ouest et du Sud, Europe de l'Est :***

Les pays d'endémie intermédiaire sont l'Europe de l'Ouest et du Sud (Espagne, Portugal, Italie, Grèce) et l'Europe de l'Est.

Ces résultats sont réalisés d'après les études du CDC (Center for Disease Control). [01, 46]

Chapitre II
Dépistage et Diagnostic

I - Outils de dépistage et de diagnostic de l'hépatite B :

Le diagnostic est fondé sur l'étude des marqueurs sérologiques de l'infection à HBV, l'inoculation du chimpanzé étant réservée à des travaux de recherche ou de contrôle de vaccin.

De nombreuses techniques de détection de ces marqueurs ont été développées. L'immuno-diffusion en gel d'agarose, peu sensible a été la première méthode de mise en évidence de l'Ag HBs. L'électrosynérèse, la fixation du complément, l'hémagglutination passive (l'Ag HBs y est détecté par la mesure de l'inhibition de l'hémagglutination) qui sont apparues ensuite, ont une sensibilité accrue. Celle-ci a été encore améliorée avec l'immuno-électromicroscopie et l'hémagglutination passive inversée. Actuellement, les deux meilleurs techniques sont les testes radio-immunologiques (RIA) et l'ELISA qui permettent de détecter les Ag HBs et HBe, anti -HBs et ant- HBc. L'ELISA et la RIA sont d'une grande sensibilité, ce sont les méthodes de choix pour le dépistage des porteurs chroniques.

L'interprétation des résultats repose sur la connaissance de la chronologie de l'infection par le HBV. [02]

L'hépatite B est actuellement l'infection qui pour laquelle existe un maximum de tests permettant la mise en évidence de marqueurs très représentatifs de différents cas de figures possibles pour un sujet ayant rencontré le virus ou ses composants. [47]

Tableau 02 : Interprétation des marqueurs sérologiques .[07]

	Ag HBs	Ag HBe	Anti-HBc	Anti-HBe	Anti-HBs	Signification
Antigènes présents depuis moins de 6 mois	+	+	+	-	-	Début de l'hépatite aiguë
	+	-	+	+	-	Fin de l'hépatite aiguë
Antigénémie persistante au-delà de 6 mois	+	+	+	-	-	Porteur chronique (Ag HBe+)
	+	-	+	+	-	Porteur chronique (Ag HBe-)
Disparition de l'Ag à long terme	-	-	+	+	+	Guérison / immunité
	-	-	+	-	+	Poste-infection « long terme »
	-	-	-	-	+	Immunité par vaccination

I-1- Système Ag - Ac HBs :

L'antigène HBs est détecté dans le sérum environ 1 à 3 mois après la contamination. Il s'agit en générale du premier marqueur d'infection virale retrouvée dans le sang. Une récente étude a indiqué que la concentration d'antigène HBs est corrélée de façon positive avec la concentration d'ADN virale circulant.

La navigation de l'antigène HBs et l'apparition d'anticorps Anti-HBs rendent compte de l'élimination virale et de la guérison sérologique. [16]

➤ *Ac- anti-HBs :*

Les Anti-HBc apparaissent de façon précoce au cours de l'infection virale, soit de façon concomitante, soit 2 à 3 semaines après l'antigène HBs en cas d'infection aiguë. La présence d'Anti HBc de classe IgM va permettre d'affirmer le caractère récent et aiguë de l'infection. Certaines études ont pu montrer une corrélation entre le taux d' IgM Anti-HBc et la présence d'une réplication virale active et de l'expression cytoplasmique de l'antigène HBc dans le foie. [16]

➤ **Système Ag-Ac HBe :**

La détection de l'antigène HBe sérique demeure un marqueur indirect de l'existence d'une répllication du virus de l'hépatite B. classiquement la séroconversion de l'ADN virale sérique et des titres d'antigènes HBe se traduit avec l'élimination de l'ADN viral sérique et des titres d'antigènes HBs. Ce pendant la présence d'anticorps anti-HBe ne permet pas d'affirmer la négativation complète de la répllication virale puisque des variants antigènes HBe négatifs peuvent émerger au moment de la séroconversion anti-HBe. Au cours des infections chroniques par le virus de l'hépatite B, le système antigène – anticorps HBe va permettre une distinction entre une infection par un virus sauvage (Antigène HBe +) et une infection par un variant antigène HBe négatif (Anticorps anti HBe +).[16]

➤ **ADN Viral sérique :**

La détection de l'ADN virale dans le sérum permet le diagnostic d'une répllication virale. L'ADN viral est détecté de façon classique par des techniques d'hybridation moléculaire.

La présence de l'ADN du VHB dans le sérum est globalement corrélée à l'activité de l'ADN polymérase virale et reflète la production de virions complets infectieux par le foie.

Très récemment, sont apparues les techniques de mesure de l'ADN viral par un test d'ADN branché, qui ne reposent pas sur l'amplification du génome viral mais sur l'amplification du signal détecté. Ces techniques ont l'avantage d'être quantitatives et leurs sensibilités permettent de faire le diagnostic d'une répllication virale de faible intensité, notamment chez les patients atteints d'une infection par un variant antigène HBe négatif et de surveiller la répllication virale au cours des traitements antiviraux. [16]

➤ **Antigène Pré-S1 :**

L'antigène Pré-S1 est retrouvé sur l'enveloppe sur des particules virales complètes infectieuses et pourrait donc représenter un marqueur de répllication virale. Un test radio-immunologique de détection de l'antigène Pré-S1 a permis de montrer que l'expression de cet antigène est corrélée de façon significative avec l'intensité de la répllication virale chez les patients présentant une hépatite B, chronique agressive.

Un rapport antigène Pré-S1 / Ag HBs > 10 % est retrouvé chez 90% des patients atteints d'hépatite agressive associée à une répllication virale, même de faible intensité.

Un rapport antigène Pré-S1 / Ag HBs < 10% est retrouvé chez 90% des porteurs asymptomatiques du virus de l'hépatite B ne présentant pas de répllication virale détectable par les techniques classiques. [16]

I-2- Examens biochimiques complémentaires :

Parmi les éléments du bilan hépatique, les trois examens les plus importants sont les transaminases, la bilirubinémie et les facteurs de la coagulation (TP et facteur v).

L'augmentation des transaminases est habituellement supérieure à 10 fois la valeur supérieure de la normale (N).

La bilirubinémie (à prédominance conjuguée) est augmentée dans les formes ictériques (10% des cas).

Le TP (et le facteur v) est le reflet des capacités de synthèse hépatique. Il est inférieur à 50% dans les formes sévères (qui justifient une hospitalisation). Il est effondré dans les rares formes fulminantes (qui font transférer le malade en milieu spécialisé dans l'éventualité d'une transplantation hépatique). [46]

II-3- Ponction biopsie hépatique :

La PBH permet seule de faire le diagnostic de certitude d'une hépatopathie virale, d'en préciser l'activité et d'apprécier l'efficacité des thérapeutiques antivirales.

Il s'agit d'un geste invasif comportant certains risques qui seront minimisés si la PBH est pratiquée par un médecin expérimenté, après un contrôle des tests de coagulation et une échographie. La technique est dépendante de l'échographie abdominale, de la numération plaquettaire et des résultats de l'hémostase. [18]

➤ Indications de la PBH :

La PBH est indiquée pour le diagnostic de la plupart des maladies du foie. La difficulté est d'en préciser l'indication. En effet, il ne s'agit pas, à tort, de surmédicaliser un sujet ayant par exemple une hypertransaminasémie chronique s'intégrant dans le cadre d'une hypertriglycéridémie, ne relevant que de règles hygiéno-diététiques ; à l'inverse, il ne s'agit pas de sous-estimer l'indication d'une PBH chez un patient pour lequel pourrait être discutée une hépatite chronique virale auto-immune ou une hémochromatose.

Ainsi, des anomalies biologiques hépatiques qui ne reçoivent pas d'explication conduiront à une consultation spécialisée de façon à poser l'indication d'une éventuelle biopsie hépatique. Celle-ci permettra d'affirmer le diagnostic et éventuellement de préciser un pronostic. Dans le cadre de la pathologie virale hépatique, la répétition des PBH n'est pas rare, de façon à apprécier l'évolution spontanée ou après traitement de l'hépatite, l'éventuelle survenue d'une cirrhose justifiant une surveillance à part entière. [14, 18]

II- Dépistage et Diagnostic du VHB :**II-1- Hépatite aiguë :****II-1-1- Diagnostic clinique du VHB :**

L'incubation est variable de 60 à 110 jours.

➤ La forme la plus fréquente est l'hépatite aiguë B qui est totalement asymptomatique dans 80 à 90% et donc pour le plus souvent passe inaperçue.

➤ La forme typique qui est l'hépatite aiguë ictérique ; après la contamination l'incubation dure en moyenne 50 à 100 jours. Cette forme est rare puisqu'elle ne survient que dans 10 à 20% des cas. elle peut être précédé d'une phase pré ictérique durant 5 à 15 jours, pendant laquelle certaines manifestations prodromiques peuvent être associées de façon variable : asthénie, anorexie, nausées, douleurs abdominales, fièvre, et surtout arthralgie ou éruption cutanée. L'ictère s'installe progressivement et atteint son maximum en 5 à 10 jours, tandis que les manifestations de la période pré ictérique s'atténuent puis disparaissent. Il s'agit d'un ictère de type cholestatique, d'intensité variable avec urines foncées et selles normales ou décolorées. Le foie est de volume normale ou légèrement augmenté, et parfois douloureux. L'ictère décroît progressivement et disparaît au bout de deux à six semaines.

➤ En dehors de ces deux formes on peut citer aussi :

- La forme anictérique ; qui est sans ictère.
- La forme cholestatique ; qui régresse généralement lentement en trois à quatre mois.
- La forme prolongée ; qui peut durer jusqu'à trois ou quatre mois.
- La forme rechute ; où l'ictère réapparaît une, voire deux fois.

Et les formes avec des manifestations extrahépatiques, qui sont relativement rares mais classiques tels que :

- La forme de l'enfant, où les signes généraux sont souvent plus marqués.
- La forme de la femme enceinte, qui s'accompagne souvent d'une diminution des transaminases.
- La forme du sujet immunodéprimé, forme souvent paucisymptomatique, généralement anictérique, mais le risque de portage chronique du virus et d'hépatite B chronique est élevé. [03, 25]

II-1-2-Diagnostic biochimique:

L'élévation de l'activité sérique des transaminases entre 10 et 100 fois la limite supérieure de la normale est constante, quelle que soit la présentation de l'hépatite aiguë.

Dans les formes ictériques, elle précède l'apparition de l'ictère, l'élévation est généralement plus marquée pour l'ALAT (ou SGPT) que pour l'ASAT ou (SGOT). La γ -glutamyl transpeptidase (γ -GT) est élevée, dépassant de 5 à 10 fois la limite supérieure de la normale.

Les phosphatases alcalines sont normales ou modérément élevées, ainsi que la bilirubine (sauf dans les formes cholestatiques).

Lors de la guérison, les tests hépatiques redeviennent strictement normaux, mais la décroissance peut être lente. En cas de rechute, on observe réascension des transaminases. [03, 25]

II-1-3- Diagnostic sérologique :

Le diagnostic de l'hépatite aiguë B repose sur la présence conjointe de l'Ag HBs et des IgM anti-HBc, détectables au moment de l'élévation des transaminases.

Exceptionnellement, l'Ag HBs peut être seul présent au tout début de l'hépatite, mais les IgM anti-HBc apparaissent rapidement. Au contraire, l'Ag HBs peut avoir déjà disparu au moment du diagnostic.

Lorsque l'hépatite aiguë guérit, l'Ag HBs disparaît avant l'apparition des anticorps anti-HBs qui signent la guérison.

Pendant la période intermédiaire, seuls les anticorps anti-HBc sont présents. C'est la présence d'IgM anti-HBs qui permet alors de faire le diagnostic, diagnostic qui sera alors confirmé par l'apparition des anticorps anti-HBs quelques semaines plus tard.

La guérison est signée par la normalisation des transaminases et la disparition de l'antigène HBs. Celle-ci doit être vérifiée six mois après l'épisode aiguë.

Les anticorps anti-HBs, marqueurs de guérison, apparaissent généralement dans les semaines qui suivent cette disparition, mais ils peuvent manquer ou disparaître après quelques années. [03]

Tableau 03 : Marqueurs sérologiques de l'hépatite aiguë. [08]

Phases de l'infection	Marqueurs sérologiques
1/ phase de réplication	Ag HBs+ et Ag HBe+ Anti-HBc+ et IgM anti-HBc Anti-HBs
2/ phase d'élimination (fenêtre sérologique)	Ag HBs- Anti-HBc+ et IgM anti-HBc+ Anti-HBs- PCR - VHB+
3/ Guérison	Ag HBs- Anti-HBc+ Anti-HBs+ PCR- VHB-

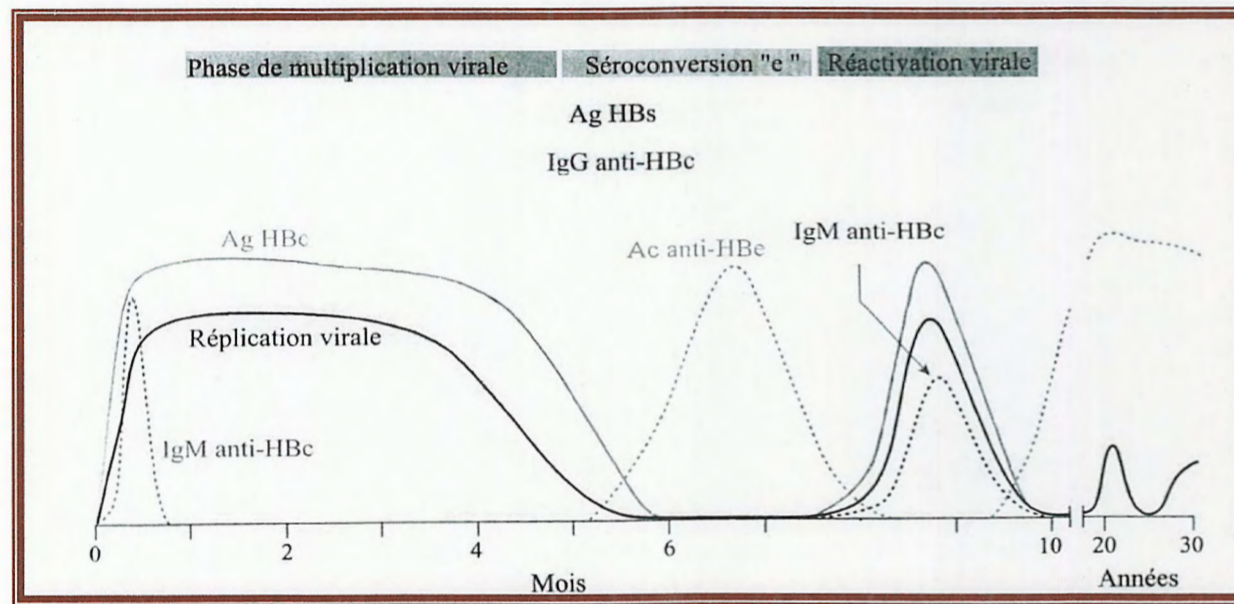


Figure 08: évolution des marqueurs sérologiques d'infection par le VHB au cours d'une hépatite aiguë. [05]

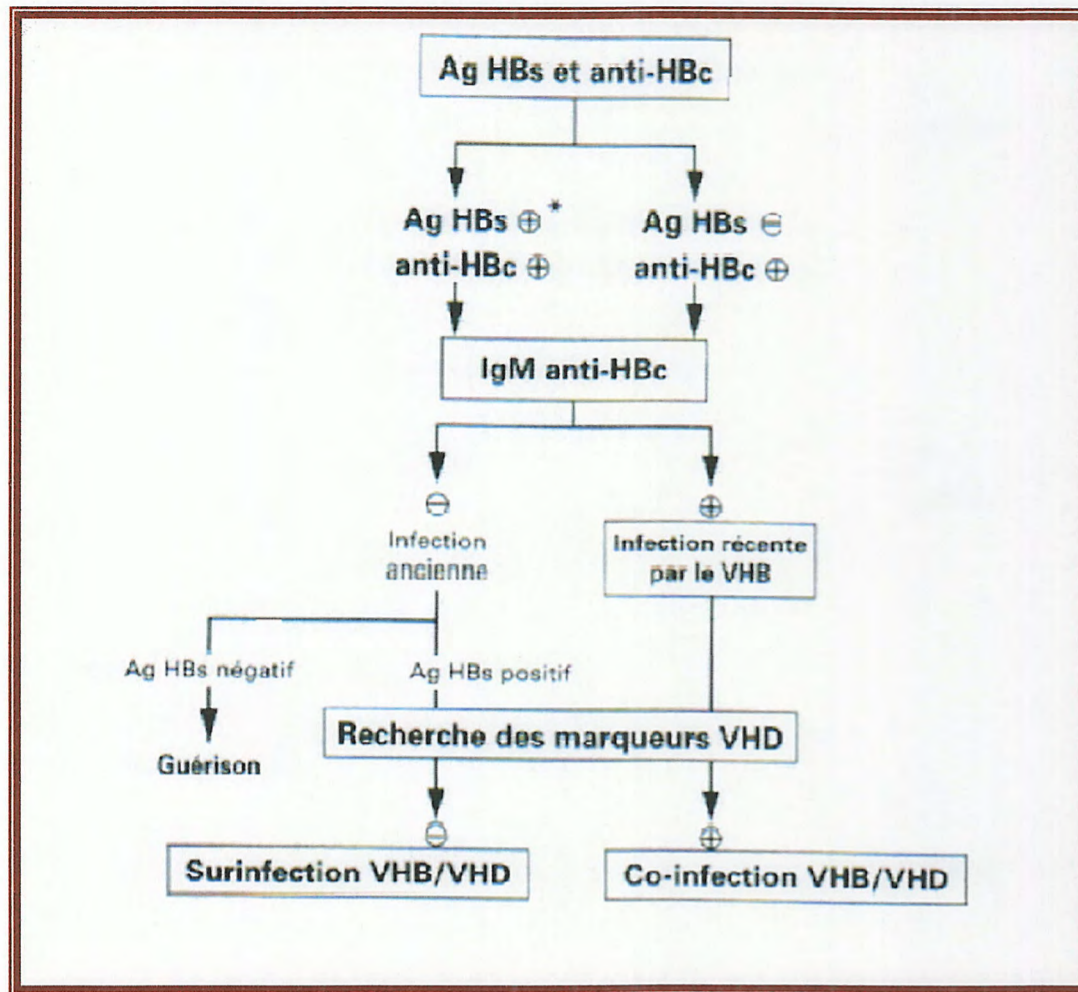


Figure 09 : Démarche du diagnostic étiologique en cas de suspicion d'une hépatite aiguë. [02]

II-2- Hépatite fulminante :**II-2-1-Symptomatologie :**

En cas d'infection aiguë par le VHB, le risque de survenue d'une hépatite fulminante est de l'ordre de 1 pour 1000.

L'hépatite fulminante est définie par l'association d'une encéphalopathie hépatique et d'une insuffisance hépatocellulaire majeure (le taux de facteur V est toujours inférieur à 50%).

L'encéphalopathie hépatique apparaît une à trois semaines après le début de l'ictère et s'aggrave progressivement en passant par trois stades successifs :

- Stade I : astérisis ;
- Stade II : syndrome confusionnel ;
- Stade III : coma.

Elle s'accompagne des autres signes d'insuffisance hépatocellulaire grave : hémorragique, hypoglycémie.

En l'absence de transplantation hépatique, l'évolution est mortelle dans 90 % des cas. Dans ce contexte, la constatation, chez un malade ayant une hépatite aiguë B, de signes neurologiques, surtout s'ils sont associés à un astérisis, impose le transfert en urgence en unité spécialisée.

Les deux marqueurs ayant une valeur pronostique, car ils permettent d'évaluer le degré de l'insuffisance hépatocellulaire, sont :

- Le taux de facteur V fortement diminué (inférieur ou égal à 30 %) dans les formes fulminantes,
- Et l'encéphalopathie hépatique [03].

II- 2-2- Evolution :

Elle peut être favorable, traduisant une régénération hépatique efficace avec augmentation transitoire de l' α – foetoprotéine sérique, augmentation progressive du facteur V et disparition des troubles neurologiques. Cependant elle est plus souvent mortelle, révélant l'absence de régénération hépatique. Le décès est lié aux complications de l'insuffisance hépatique profonde : hypertension intracrânienne aiguë non contrôlée, majorée par une insuffisance rénale, sepsis, instabilité circulatoire, hémorragie. La mortalité est moindre chez les patients hospitalisés avant l'apparition d'une encéphalopathie clinique .

La mortalité globale des hépatites virales fulminantes est de l'ordre de :
50 % si le sujet à moins de 20 ans, 75 % entre 20 et 40 ans, de 90 % entre 40 et 60 ans et de 100 % au-delà de 60 ans.

Même s'il apparaît donc que le risque d'hépatite grave (dans ses formes fulminantes ou sub-fulminantes) soit faible, du fait de son caractère imprévisible, aucune hépatite aiguë ne devra être négligée dans son diagnostic ou son suivi. [46]

II-3 Hépatite chronique :

II-3-1- Définition :

En cas d'hépatite aiguë, il faut s'assurer de la guérison en vérifiant que les transaminases se normalisent et que l'Ag HBs disparaît alors que l'anticorps anti-HBs apparaît.

La chronicité se définit classiquement par la persistance de l'Ag HBs pendant plus de 6 mois. Cependant, si dans le cadre d'une hépatite aiguë l'Ag HBs n'a pas disparu au bout de 2 mois, il est recommandé de rechercher l'ADN viral et l'Ag HBe, leur persistance à ce moment serait un facteur prédictif d'une évolution chronique. [16]

II-3-2- Fréquence :

Globalement, on estime que 5 à 10% des sujets infectés par le VHB développent une hépatite chronique. Cette fréquence dépend en fait beaucoup du terrain :

- Elle est beaucoup plus fréquente chez l'enfant (70 à 80% de portage chronique chez le nouveau-né contaminé par sa mère) que chez l'adulte ;
- Elle est plus fréquente chez les sujets immunodéprimés (20 à 40%), quelle qu'en soit la cause (chimiothérapie, hémopathie, Sida, hémodialyse...);
- Elle est un peu plus fréquente chez l'homme (environ 15%) que chez la femme (environ 5%).

Le passage vers une forme chronique pourrait être plus fréquent lorsque l'infection a été initialement asymptomatique. La persistance de l'Ag HBs pendant plus de 6 mois doit faire rechercher une multiplication virale persistante (Ag HBe et ADN viral B). Elle justifie une consultation spécialisée et éventuellement un traitement antiviral. [16]

II-3-3- Différents types d'hépatite chronique :**➤ Hépatite chronique persistante :**

Elle représente 40% des porteurs chroniques, l'évolution de cette hépatite se fait vers la guérison 2 à 7 ans d'évolution, "notamment lorsqu'il y a l'absence de marqueurs de réplication : antigène HBe, ADN viral ADN polymérase "

Les symptômes susceptibles de se produire sont l'intolérance aux graisses et à l'alcool, la fatigue, les douleurs abdominales, des malaises et de la fièvre. Il existe une élévation des transaminases qui peut être fluctuante et n'excède généralement pas 4 fois la valeur supérieure de la normale. Les résultats des autres tests hépatique (Bilirubinémie, phosphatases alcalines) sont normaux. [03, 06]

➤ Hépatite chronique active :

Elle représente 30% des porteurs chroniques. Ces hépatites sont associées à une réplication virale. " phase de multiplication virale " avec présence d'antigène HBe, d'ADN polymérase et d'ADN viral. Elle est la forme la plus typique avec le risque important d'évolution hépatocellulaire dans 15% des cas. L'élévation des transaminases sériques est plus ou moins importante et prédomine sur l'ALAT. Les phosphatases alcalines sont normales ou modérément élevées, ainsi que la γ -GT. Sauf dans les formes cholestatiques où elles peuvent être très augmentées. La bilirubine est normale ou peu élevée. [06]

➤ porteurs sains de l'antigène HBs :

Le portage sain de l'antigène HBs concerne environ un tiers 30% des patients infectés chroniques par le virus de l'hépatite B. il est défini par des transaminases durablement normales, l'absence de marqueurs de réplication virale "Ag HBe et ADN du VHB sérique " et une échographie normale. Ces porteurs sont peu ou pas contagieux.

II-4-Symptomatologie :**II-4-1- Diagnostic clinique du VHB :**

L'hépatite chronique B est souvent asymptomatique ou se traduit par une asthénie (symptôme le plus fréquent). Elle fait parfois envisager le diagnostic de syndrome dépressif. Des douleurs de l'hypochondre droit, habituellement intermittentes et légères sont également possibles. L'examen clinique est en général normal ou montre une hépatomégalie. Les signes d'insuffisance hépatocellulaire ou d'hypertension portale se voient au stade cirrrose. [16]

II-3-5- Diagnostic biochimique:

Le signe biologique constant est l'augmentation des transaminases. L'élévation est habituellement modérée, dépassant rarement 5 fois la limite supérieure de la normale. En l'absence de cirrrose, la transaminase ALAT (SGOT) est presque toujours supérieure à la transaminase ASAT (SGOT). La gamma-glutamyltranspeptidase (γ -GT) est entre 1 à 3 fois la normale. En l'absence de cirrrose, la bilirubinémie et le taux de prothrombine sont normaux et les gammaglobulines normales ou peu augmentées. [03,16]

II-3-6- Diagnostic sérologique :

Le diagnostic de l'hépatite chronique, c'est-à-dire de la maladie hépatique liée à la réplication persistante du VHB, repose sur le dosage de l'activité sérique des transaminases et si elles sont élevées, sur la biopsie hépatique. Toutefois, la persistance de l'Ag HBs six mois après l'hépatite aiguë définit le portage chronique du VHB et nécessite de déterminer le statut virologique du malade.

Chez le porteur chronique, l'Ag HBs est toujours présent dans le sérum. Trois marqueurs complémentaires devront être recherchés : l'Ag HBe, les anticorps anti-HBe et l'ADN du VHB. [03,30,44]

Tableau 04: Marqueurs sérologiques de l'hépatite chronique [08]

Différentes formes virologiques	Marqueurs virologiques	Biochimie
1/ VHB sauvage Ag HBe+	Ag HBs+ Anti-HBc Ag HBe+ Ag pré-S1+ ADN-VHB+ (Génostic)	ALT=N *Tolérance immunitaire *IgM anti-HBc ultrasensibles ALT= *rupture de tolérance *IgM anti-HBc ultrasensibles+
2/ VHB sauvage Anti-HBe	Ag HBs+ Anti-HBc+ Ag HBe- / Anti-HBe+ Ag pré-S1- ADN-VHB- (génostic, bDNA) PCR-VHB+/-	LT=N
3/ VHB muté Ag HBe-	Ag HBs+ Anti-HBc+ Ag HBe-/Anti-HBe+ Ag HBe-/Anti-HBe+ Ag pré-S1+ ADN-VHB fluctuant (Génostic, bDNA) PCR- VHB+	ALT fluctuantes IgM anti-HBc Ultrasensibles fluctuantes

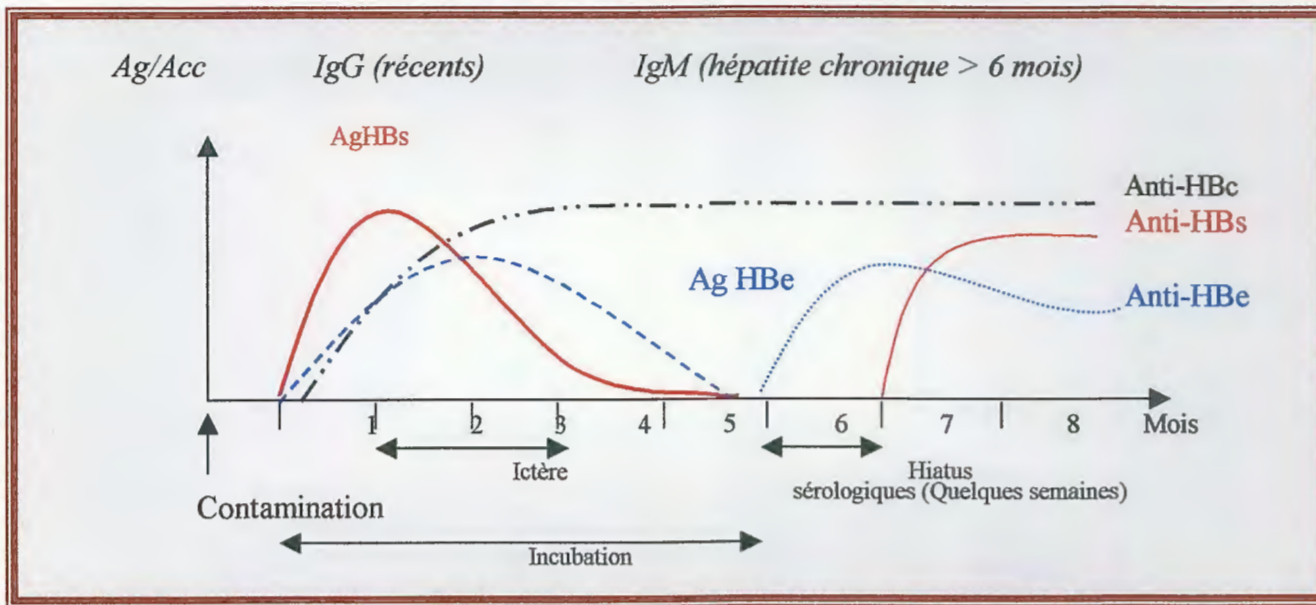


Figure 10 : évolution des marqueurs sérologiques au cours d'une infection chronique [02]

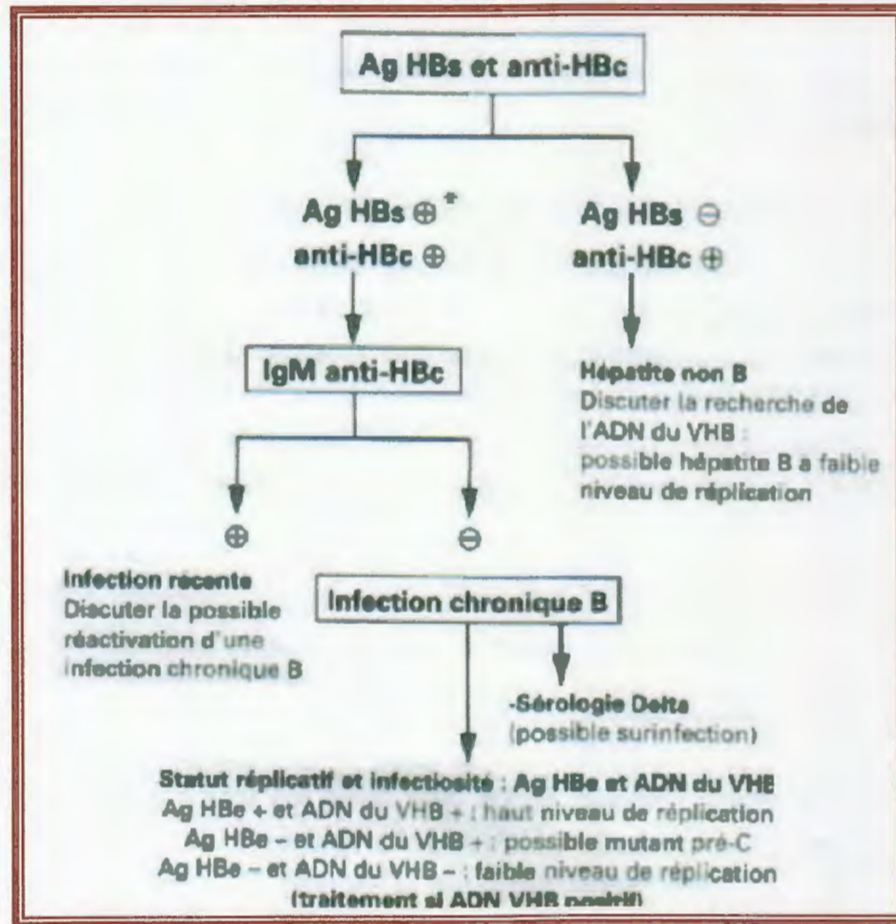


Figure 11 : Démarche du diagnostic étiologique des infections chroniques. [02]

III- Complication de l'hépatite Virale B :

III-1-Complication :

Suite à une hépatite aiguë, on peut observer un passage à la chronicité et cela dans 10% des cas, éventuellement on peut aussi noter une surinfection par le «VHD ».

L'hépatite aiguë peut évoluer vers une hépatite fulminante au risque de 1% cette dernière est caractérisée par :

- Un taux de prothrombine « TP » < 30.
 - Encéphalopathie « trouble de la conscience»
- Survenue brutale d'une fièvre élevée. [17]

III-2- Complications des hépatites chroniques :

Cirrhose et carcinome hépatocellulaire

✓ *Cirrhose*

La cirrhose constitue l'évolution néfaste d'environ 20 % des hépatites chroniques virales. Entité anatomique, souvent latente et asymptomatique, elle est parfois compliquée, et ces complications (hypertension portale, insuffisance hépatocellulaire et carcinome hépatocellulaire), précipitées par la persistance d'une multiplication virale, sont souvent alors des signes révélateurs.

✓ *Carcinome hépatocellulaire : mécanismes de l'hépatocarcinogenèse virale*

Le carcinome hépatocellulaire, développé à partir des hépatocytes, et détaillé par ailleurs, représente environ 80 à 90 % des cancers primitifs du foie. Il représente en fréquence le huitième cancer au monde. Son incidence est faible en Europe du Nord, mais fréquente en Afrique noire ou en Extrême-Orient où non seulement les virus hépatotropes mais aussi les expositions aux mycotoxines sont d'incidence élevée. Il complique une cirrhose dans plus de 90 % des cas, avec une nette prédominance masculine (80 %). Les détails concernant le diagnostic.

Les mécanismes de l'hépatocarcinogenèse restent imprécis. Un certain nombre de facteurs carcinogènes ont été identifiés, pour lesquels il est difficile de distinguer les facteurs initiateurs des facteurs promoteurs. Les infections virales chroniques hépatotropes, la cirrhose elle-même et les carcinogènes chimiques s'intriquent pour favoriser l'incidence annuelle de 2 à 5 % de carcinomes hépatocellulaires survenant en cas de cirrhose. [24, 30]

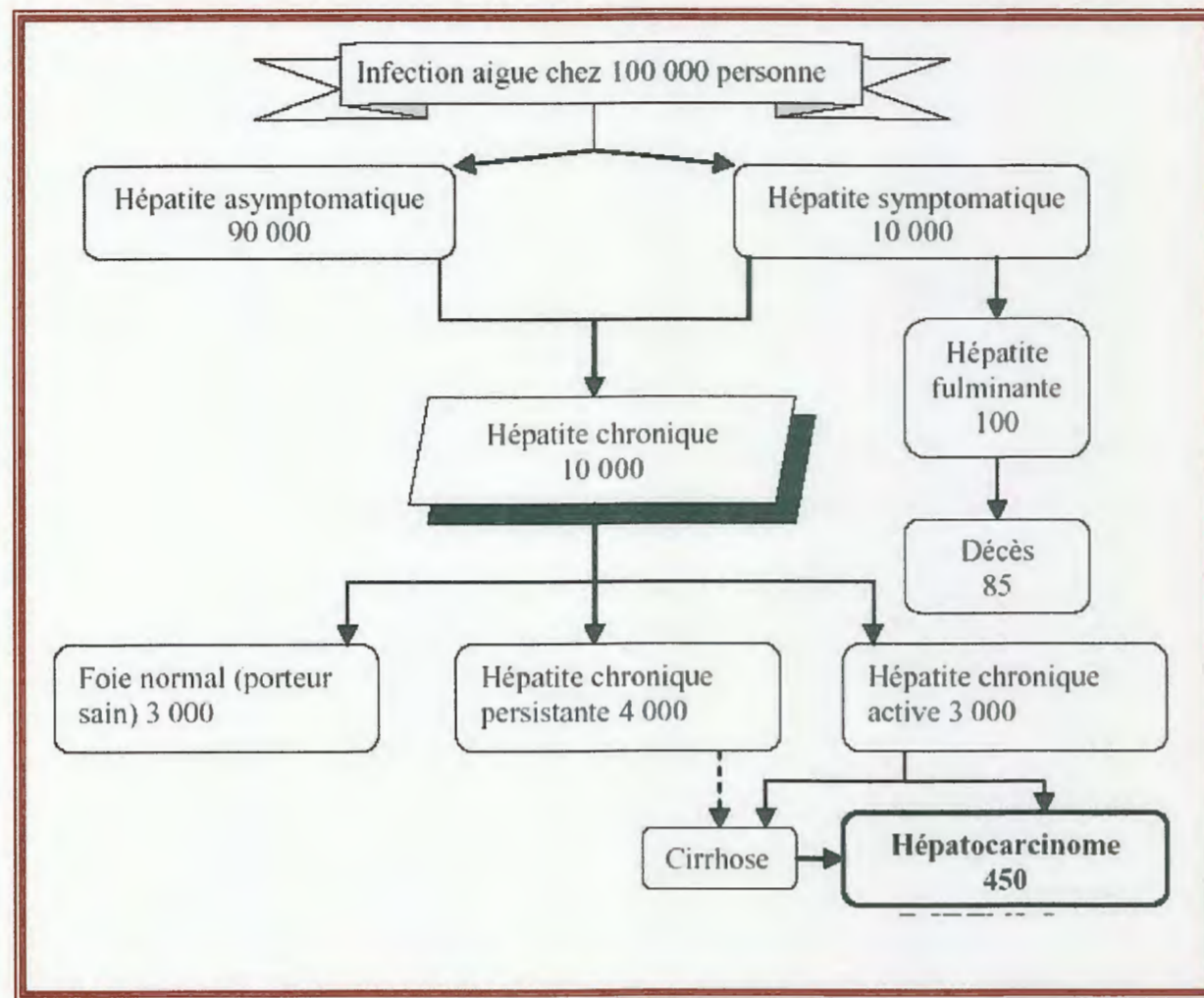


Figure 12 : Possibilités évolutives de l'hépatites B

IV- Co- infection par le VHD :

La recherche du VHD est importante à réaliser chez les sujets déjà porteur du VHB car une co-infection ou une surinfection par le virus défectif est un pronostic très défavorable dans l'évolution de l'infection. Si l'infection chronique par le VHB est connue, le diagnostic repose sur la mise en évidence d'une séroconversion pour les marqueurs du VHD. Sans la connaissance d'une sérologie VHB antérieure, le diagnostic repose sur la mise en évidence des marqueurs du VHD : antigène VHD à la phase précoce de l'infection, puis anticorps anti-VHD et antigène HBs, en l'absence d'IgM anti-HBc (témoignant d'un contact avec le VHB). Il existe des tests ELISA sensibles permettant de détecter les IgM ou les immunoglobulines totales anti-VHD. Des techniques de PCR peuvent également être utilisées pour détecter une infection évolutive dans le foie et le sérum.[44]

Chapitre III
Traitement

Traitement :**I-Traitement curatif :****➤ Traitement d'hépatite aiguë :**

aucun traitement n'est utile. On conseille habituellement d'éviter les boissons alcoolisées pendant la phase aiguë. La prescription de sédatifs doit également être évitée. La surveillance biologique doit être hebdomadaire afin de ne pas méconnaître l'évolution vers une hépatite sévère, voire fulminante. Par ailleurs, la guérison doit être contrôlée à 3 et 6 mois par le dosage des transaminases et la sérologie virale.[03]

➤ Traitement d'hépatite fulminante :

l'existence d'une encéphalopathie hépatique impose le transfert urgent en service de réanimation. Le seul traitement curatif efficace est la transplantation hépatique qui permet, en l'absence de ses complications propres, la survie et la guérison définitive.[07]

➤ Traitement d'hépatite chronique :

l'objectif des traitements anti-viraux chez les malades ayant une hépatite chronique B est d'inhiber la réplication virale afin d'éviter l'aggravation des lésions hépatiques, l'évolution vers la cirrhose et le risque de développer un carcinome hépatocellulaire. Deux médicaments ont actuellement reçu l'autorisation de mise sur le marché (AMM) dans le traitement de l'hépatite virale chronique B. [30]

• L'interféron alpha recombinant (Roféron^R-A, Introna^R) :

Molécule anti-virale et immunomodulatrice. Il est administré par voie sous-cutanée à la posologie de 5 à 10 millions d'unités 3 fois par semaine pendant 4 à 6 mois.

Ce traitement entraîne des effets secondaires fréquents en particulier :

La survenue d'un syndrome pseudo-grippal. Une toxicité hématologique est possible portant essentiellement sur la lignée granuleuse et plaquettaire.

Des troubles psychiatriques divers pouvant aller jusqu'au syndrome dépressif grave avec tentative d'autolyse.

Manifestations immunologiques : thyroïdites, syndrome sec, purpura. Un arrêt de la réplication virale est obtenu dans 30 à 40 % des cas et généralement durable, c'est la séroconversion HBe qui signe l'efficacité thérapeutique, une amélioration histologique est observée parallèlement. Une cytolyse, parfois importante, peut être constatée après quelques semaines de traitement, due à la stimulation de la réponse immunitaire : elle est un indice d'efficacité du traitement et doit inciter à le poursuivre. [08]

• La vidarabine monophosphate (vira -MP^R) :

Il s'agit d'analogue nucléosidique qui agit en inhibant l'ADN polymérase du VHB. La vidarabine monophosphate administrée par voie intra- musculaire à la posologie de 10 mg/kg/j pendant 5 jours suivis de 5 mg/kg/j pendant 23 jours en deux injections quotidiennes permet l'arrêt de la réplication virale dans environ 30%des cas. Une amélioration histologique est habituellement associée.

La toxicité est essentiellement neuromusculaire et la symptomatologie peut être intense et persister à l'arrêt du traitement.

De nouvelles molécules sont actuellement en évaluation, en particulier le famciclovir et la lamivudine, molécules anti-virales inhibant puissamment la réplication du VHB in vitro, pour lesquels des résultats in vitro encourageants ont été récemment publiés mais pour lesquels il semble se poser le problème, comme dans le traitement des infections à VIH, de la survenue de mutants résistants (dans le gène de la polymérase virale).

Chez les malades ayant une infection chronique répliquant par le VHB, mais ayant une mutation dans la région pré -C du génome qui empêche la sécrétion de l'antigène HBe, l'interféron -alpha est également utilisé, mais il semble avoir une moins bonne efficacité, même lorsqu'il est utilisé à plus forte dose ou sur une durée plus longue. [08]

II-Prophylaxie :**II-1-Vaccination :**

Il existe deux grands types de vaccins contre l'hépatite B ; L'un (Hevac B (pasteur)), contient l'antigène HBs antigène purifié et inactivé, dérivé et préparé à partir du plasma de patients porteurs chroniques de l'Ag HBs et l'autre est préparé par génie génétique à partir de cellules de levures (Engerix-B (SKF-B), Gen H-B-Vax (MSD), Heparcomb (Berna)). A quelques nuances près ces deux vaccins sont similaires en terme de coût, d'efficacité et de sécurité.

La dose est de 1ml pour tous sauf pour l'Heparcomb (Berna) (0,5ml) ; la moitié pour les enfants jusqu'à 10ans. En employant des injections par voie intramusculaire (deltoïde) rapprochées à 0, 1, 2 et 12 mois, une augmentation rapide des taux d'anticorps est obtenue. La nécessité des rappels est impérative.

Ces vaccins confèrent une protection d'environ 80 à 90% contre l'hépatite B : les femmes et les jeunes sont les meilleurs répondeurs. Il existe un faible pourcentage de « non répondeurs » ; environ 5% de gens sains de moins de 40ans. Ce groupe a montré certaines caractéristiques HLA. Chez les patients immunodéprimés (dialysés, porteur du virus HIV, alcooliques, cirrhotiques, etc.), ce pourcentage peut aller jusqu'à 40 - 50%. Des protocoles

d'immunisations plus fortes ou associées à de l'interleukine-2 ont permis d'augmenter le pourcentage des répondeurs.

La vaccination a permis de démontrer l'existence de mutations du virus de l'hépatite B en effet elles ne confèrent plus de protection contre ces mutants. Certains se caractérisent par la présence d'HBV DNA dans le sang et l'absence d'Ag HBe. Des mutations d'un ou plusieurs acides aminés sur le génome du virus ont pu être démontrées. [03, 10]

II-2- Immunisation passive contre l'hépatite B :

L'utilisation des immunoglobulines humaines anti-HBs (Hepuman (Berna)) ou immunoglobuline anti-HBs SRK (SRK Zentrallaboratorium) est indiquée chez : les personnes blessées par un ustensile souillé par du sang infectieux, les partenaires sexuels porteurs de l'infection aiguë ou chronique, tous les enfants nés de mère porteuses du virus (le taux de transmission du virus à l'enfant, si l'HBV DNA est présent chez la mère, est proche de 90%). L'immunisation se fera dans les 24 heures après exposition et simultanément à une vaccination rapide standard. La dose et la voie d'administration seront définies de cas en cas. [10]

➤ Cas particulier de l'immunisation après contamination :

Il est possible d'obtenir une immunisation efficace après contamination. On associe alors la vaccination à l'administration d'immunoglobulines spécifiques ; cette association permet l'obtention d'une protection efficace après contamination

Cette immunisation passive - active est une urgence et doit être effectuée le plus tôt possible après la contamination. Elle est probablement efficace pendant un délai d'une à deux semaines. La conduite à tenir est la suivante : le plus tôt possible, idéalement le jour de la contamination, on prélève le sang du sujet contaminé pour la recherche des marqueurs sériques du VHB. Sans attendre le résultat de cette recherche, une injection d'immunoglobulines spécifiques anti-HBs sont différents. La conduite ultérieure dépend des résultats de la recherche des marqueurs du VHB. S'ils sont présents, l'immunisation ne sera pas poursuivie. S'ils sont absents, au 30ème jour, on effectue une deuxième injection d'immunoglobulines spécifiques, et la deuxième injection de vaccin. La troisième injection de vaccin sera effectuée au 60ème jour, et les rappels à 1 à 5 ans.

➤ **Personnes devant bénéficier de cette immunisation passive – active :**

- 1- L'entourage sexuel et familial (enfants) d'un sujet atteint d'hépatite aiguë B.
- 2- Nouveau-nés de mères atteintes d'hépatite aiguë pendant les six derniers mois de la grossesse ou porteuses chroniques du VHB. Ces nouveaux-nés sont contaminés soit au moment de l'accouchement soit dans la période postnatale, pendant laquelle ils sont en contact très étroit avec leur mère. L'immunodépression contemporaine de la période néonatale explique le risque très élevé de portage chronique du VHB chez l'enfant en cas de contamination. L'entourage immédiat d'un sujet atteint d'hépatite aiguë B doit bénéficier de l'immunisation passive- active.

Le risque de contamination est élevé si la mère a une infection par le VHB avec multiplication virale. Il est sûrement beaucoup plus faible en l'absence de multiplication virale. Aussi, ces distinctions ne doivent pas interférer avec l'attitude pratique d'immunisation passive – active de tout nouveau-né de mère Ag HBs positive, entreprise dès la naissance.

- 3- Sujets susceptibles de s'être inoculés avec du sang de malade porteur du VHB. Il s'agit en général de médecins ou d'infirmiers qui se sont blessés avec une aiguille. C'est une urgence thérapeutique, mais on peut alors surseoir à la deuxième injection d'immunoglobulines spécifiques anti- HBs. Lorsqu'un tel accident survient, il est bon d'en profiter pour vérifier que tout le personnel de l'unité est bien vacciné contre le VHB. [10]

➤ **La non- réponse à la vaccination :**

Tous sujets confondus, environ 5% des vaccinés sont non répondeurs (c'est-à-dire ont un titre d'anticorps anti- HBs inférieur à 10UI/ml).

Les déterminants de cette non- réponse sont en partie génétiques, mais incluent aussi un âge supérieur à 40 ans, le sexe masculin, l'alcoolisme chronique, l'hémodialyse, l'infection par le VIH. L'existence d'une cirrhose.

Il n'existe pas de stratégie éprouvée pour immuniser les non- répondeurs.

Partie Pratique

Matériels et Méthodes

I- Matériels et méthodes :

➤ **Donneurs de sang :**

C'est au niveau du PTS (poste de transfusion sanguine de l'hôpital de Jijel) qu'on a effectués nos investigations.

Ainsi du 01 / 04/ 2005 jusqu'au 15 / 06 / 2005 on a dénombré 1540 donneurs de sang. Sur chaque donneur, on a réalisé une étude sérologique, et un suivi a été effectué sur les donneurs Ag HBs positif par des tests sérologiques et biochimiques.

Chaque donneur doit répondre au questionnaire suivant avant tout prélèvement.

Interrogatoire
Secteur sanitaire de Jijel

{Fiche de renseignements}

Date:.....		N° de collecte :.....
Nom et Prénom :.....	Age :.....	Sexe :.....
Adresse :.....		Groupage :.....
T.A :.....	Quantité :.....	Prélevé par :.....
Donneur régulier : Oui / Non		Contre partie : Oui/ non

Questionnaire
(Encercler les mentions utiles)

- **Etes vous en bonne santé**
C'est-à-dire pas de fatigue, Amaigrissement, Fièvre, Tenace, Toux Persistante) Oui non
- **Depuis 04 mois avez-vous :**
 - Eté malade. Oui non
 - Subi un Traitement régulier. Oui non
 - Eté vacciné (e). Oui non
 - Reçu un sérum antitétanique. Oui non
 - Eu une affection allergique. Oui non
- **Depuis un an avez-vous**
 - Eté Opéré (e). Oui non
 - Eté enceinte. Oui non
 - Eté transfusé (e). Oui non
- **Depuis 03 ans avez-vous :**
 - Fait un Voyage. Oui non
 - Fait de la nivaquine pendant ce voyage. Oui non
 - Fait des crises de paludisme. Oui non
- **Dans le passe avez-vous eu une maladie :**
 - Cardiaque (Infarctus de Poitrine etc. ...). Oui non
 - Pulmonaire (Tuberculose Embolie pulmonaire etc....). Oui non
 - Hépatique. Oui non
 - Rénale. Oui non
 - Endocrinienne (Diabète, Maladie Thyroïdienne etc....). Oui non
 - Digestive (Ulcères -hernie, hiatale etc....). Oui non
 - Neurologique (Epilepsie, Traumatisme Crânien etc....). Oui non
 - Rhumatismale. Oui non
- **En un accident :**
 - Avez-vous donné de sang. Oui non
 - Date du dernier don :.....

➤ **Matériels :**

Les prélèvements, les dosages ont été réalisés sur des échantillons de sang.
Le prélèvement sanguin est veineux à l'aide d'une seringue jetable au niveau du pli du coude.
Une quantité de sang est placée dans un tube à hémolyse contenant un anticoagulant 'héparine',
les dosages sont effectuées sur le plasma après centrifugation à 1500 t /min pendant 10 minutes.

➤ **Méthodes :**

Lors de notre étude, on a effectué des tests sérologiques et biochimiques :

I-1- MONOLISA : Ag HBs plus :

MONOLISA Ag HBs plus est une technique immuno-enzymatique de type « Sandwich » en 1 temps qui pour détection de l'antigène de surface du virus de l'hépatite B (Ag HBs) dans le sérum ou le plasma humain.





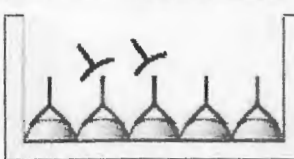
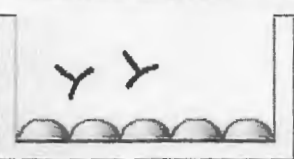
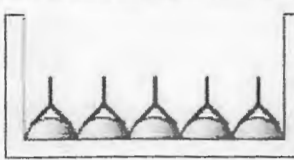
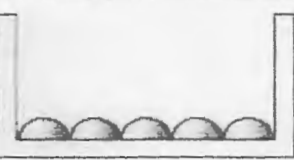
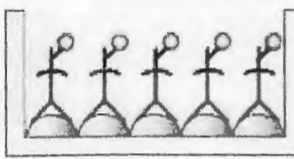
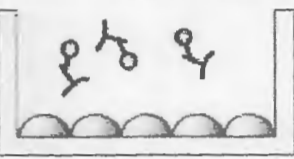
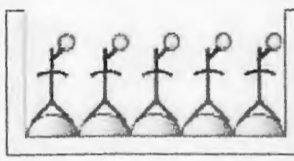
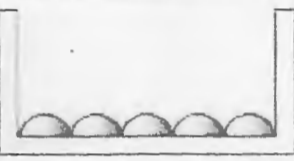
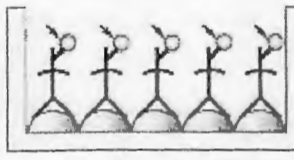

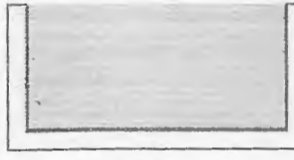

	Sérum positif	Témoin négatif
		
Dépôt de l'antigène		
Addition puis incubation du sérum		
Lavage		
Addition d'anticorps anti-IgG couplés à une enzyme		
Lavage		
Apport du substrat et réaction enzymatique		
Lecture du résultat		

Tableau 05: Explication de la démarche de la réaction

I-1-1 Intérêt clinique :

La présence de l'Ag HBs dans le sérum témoigne d'une infection par le virus de l'hépatite B. il est le premier marqueur à apparaître et peut précéder de 2 à 3 semaines les signes cliniques et biologiques de la maladie. Sa présence peut être très brève (quelques jours) ou très longue (plusieurs années). Au-delà de 6 mois de persistance de l'Ag HBs, l'hépatite est qualifiée de « chronique ». L'existence de nombreux porteurs chroniques asymptomatiques repose sur la détection de l'Ag HBs à chaque don de sang.

I-1-2 Principe du test MONOLISA Ag HBs plus :

MONOLISA Ag HBs plus est une technique immuno-enzymatique de type « Sandwich » en 1 temps utilisant trois anticorps monoclonaux sélectionnés pour leur capacité à se lier aux différents sous-types de l'Ag HBs actuellement reconnus par l'OMS.

La phase solide est constituée de 12 barrettes de 8 cupules en polystyrène sensibilisées avec le premier anticorps monoclonal.

Les deux autres anticorps monoclonaux sont couplés à la peroxydase.

Le dosage comprend les étapes suivantes :

1- distribution des échantillons et des sérums de contrôle dans les cupules de la microplaque.

Cette distribution peut être contrôlée visuellement : en effet, il y a une nette différence de coloration entre une cupule vide et une cupule contenant un échantillon. Elle peut être aussi contrôlée par lecture spectrophotométrique à 450/620-700 nm (optionnel).

2- distribution du conjugué :

Cette distribution peut être également contrôlée visuellement : en effet, après rajout du conjugué initialement orange, la cupule se colore en rouge. Elle peut être contrôlée par lecture spectrophotométrique à 450/620-700 nm (optionnel), la distribution des échantillons peut être contrôlée à ce stade de la manipulation.

3- incubation**4- lavage puis révélation de l'activité enzymatique liée à la phase solide par adition de substrat.****5- Arrêt de la révélation, puis lecture des densités optiques à 450/620-700 nm et interprétation des résultats.**

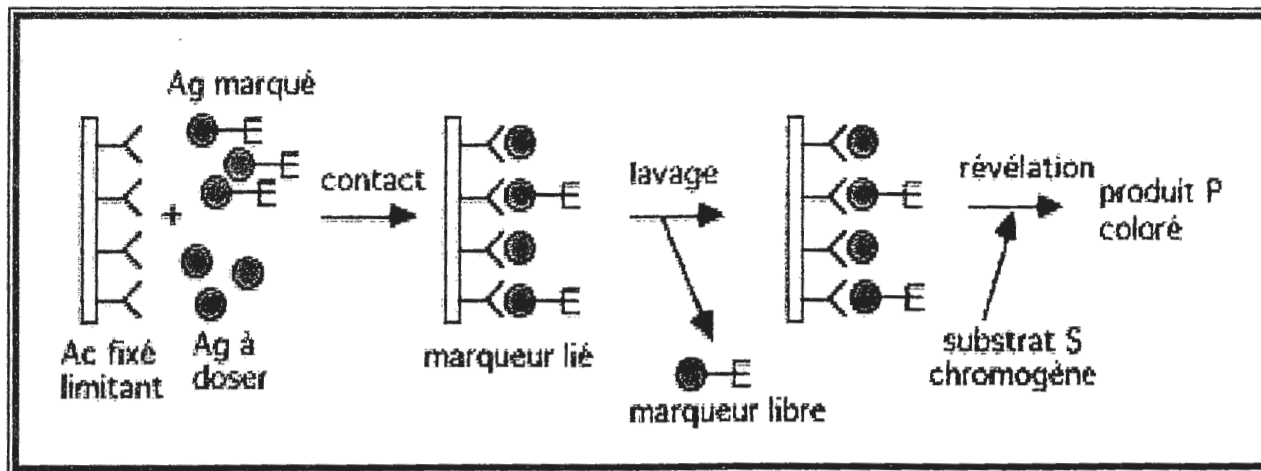


Figure 13 : Principe du test MONOLISA

I-1-3 Matériels nécessaires:

- ✓ Eau distillée ou complément déminéralisée
- ✓ Eau de javel et bicarbonate de soude
- ✓ Papier absorbant
- ✓ Gant à usage unique
- ✓ Lunette de protection
- ✓ Tubes à usage unique
- ✓ Pipettes automatiques ou semi automatique ; 50µl, 100µl, 200µl, et 1ml
- ✓ Eprouvettes graduées de 10ml, 200ml et 1000ml
- ✓ Agitateur type vortex
- ✓ Système de lavage automatique
- ✓ Bain-marie, ou incubateur sec
- ✓ Conteneurs de déchets contaminés
- ✓ Appareil de lecture pour microplaques

I-1-4 Réactifs utilisés :

- ✓ Microplaque : 12 barrettes de 8 cupules sensibilisées avec un anticorps monoclonal anti-HBs
- ✓ Solution de lavage : (concentrée 10 fois) tampon tris, NaCl, pH=7,4 contenant 1% de Tween 20. conservateur : Merthiolate de sodium à 0,01%
- ✓ Contrôle négatif : tampon tris HCl, contenant de la SAB. Conservateur : TroClin 300 (0,1%)

- ✓ Contrôle positif : tampon tris HCl, contenant de la SAB, additionné d'un mélange d'Ag HBs purifiés des sous types ad et ay, (humain). Conservateur : ProClin 300 (0,1)
- ✓ Diluant conjugué : tampon tris NaCl additionné de SAB, de Tween20, d'immunoglobulines de bœuf et de souris et d'un indicateur coloré témoin de dépôt. Conservateurs : Hydrochlorure de ciprofloxacine (0,010 mg/ml), ProClin 300 (0,1%)
- ✓ Conjugué : anticorps monoclonaux anti-HBs couplés à la peroxydase (murins, igG1). Lyophilisé
- ✓ Tampon substrat de la peroxydas : solution d'acide citrique et d'acétate de sodium PH=4,0 contenant 0,015% d'H₂O₂ et 4% de diméthylsulfoxyde (DMSO)
- ✓ Chromogène : solution contenant du tétraméthyl benzidine (TMB)
- ✓ Solution d'arrêt : solution d'acide sulfurique 1 N

I-1-5 Mode opératoire :

- 1- Sortir de l'emballage protecteur le cadre support et le nombre de barrettes nécessaires. Remettre les barrettes non utilisées dans l'emballage et renfermer ce dernier.
- 2- Distribuer dans les cupules dans l'ordre suivant (plan de plaque conseillé) :
 - Cupules A1, B1, et D1 : 100µl de contrôle négatif.
 - Cupule E1 : 100µl de contrôle positif.
 - Cupule F1 : 100µl du premier échantillon à tester si cette cupule n'est pas utilisée comme cupule témoin pour la validation du dépôt des échantillons et du conjugué.
 - Cupules G1, H1...etc : 100µl d'échantillon à tester.En fonction du système utilisé, il est possible de modifier la position des témoins.
La distribution des échantillons peut être contrôlée à ce stade de la manipulation, en effet il y a une nette différence de coloration entre une cupule vide et une cupule contenant l'échantillon.
- 3- Distribuer rapidement 50µl de la solution reconstituée du conjugué (diluant conjugué + conjugué) dans toutes les cupules. Lorsque cela est possible homogénéiser par 3 réaspirations au minimum.
- 4- Recouvrir d'un film adhésif et incubé à 37°C en incubateur sec pendant 60 mn.
- 5- Retirer le film adhésif, et passer au lavage automatique.
- 6- Préparer la solution de révélation enzymatique (tampon substrat de la peroxydase+ chromogène)

- 7- Distribuer rapidement 100 μ de la solution de révélation par cupule et placer la plaque 30mn à l'obscurité et à température ambiante. Ne pas utiliser de film adhésif lors de cette incubation.
- 8- Ajouter rapidement 100 μ l de la solution d'arrêt dans chaque cupule, en adoptant la même séquence et le même rythme de distribution que pour la solution de révélation.
- 9- Essuyer soigneusement le dessous de la plaque, et lire la densité optique à 450/620-700nm, dans les 30 minutes qui suivent l'arrêt de la réaction (les barrettes doivent être toujours conservées à l'abri de la lumière avant la lecture).

I-2 ELISA Pasteur – Genscreen HIV ½ :

Le test Genscreen ½ (version2) est une technique immuno-enzymatique qui permet la détection simultanée des anticorps anti-HIV1 et anti-HIV2 dans le sérum ou le plasma humain.

I-2-1 Intérêt clinique :

Le syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA) est une maladie infectieuse d'origine virale se traduisant par un déficit profond de l'immunité cellulaire.

Deux types de virus apparentés au groupe des lentivirus ont été isolés des lymphocytes de patients atteints de SIDA ou de ses prodromes.

Le premier nommé VIH1 a été isolé en France, puis aux Etats-Unis.

Le second nommé VIH2 a été isolé chez deux malades d'origine africaine et s'est révélé être responsable d'un nouveau foyer de SIDA en Afrique de l'Ouest.

I-2-2 Principe :

Le test est basé sur le principe sandwich en 2 étapes ; Genscreen HIV version 2 repose sur l'utilisation d'une phase solide préparée avec des antigènes purifiés (protéines recombinantes gp et p25 du virus VIH1 et peptide mimant l'épitope immunodominant de la glycoprotéine d'enveloppe du virus VIH2) et d'un conjugué préparé avec des antigènes marqués à la peroxydase (protéine recombinante nucléocapsidique et peptides mimant les épitopes immunodominants des glycoprotéines d'enveloppe des virus VIH1 et VIH2).

La mise en œuvre du test comprend les étapes réactionnelles suivantes :

- 1- Les sérums à étudier, ainsi que les sérums de contrôle sont distribués dans les cupules. Si des anticorps antiVIH1 et/ou VIH2 sont présents, ils se lient aux antigènes fixés sur la phase solide. Le dépôt d'échantillon est validé par un changement de couleur, du violet au bleu (SDP= Sample Deposition Proof).
- 2- Les antigènes VIH1 et VIH2 purifiés, marqués à la peroxydase sont ajoutés après lavage. Ils se lient à leur tour aux IgG et/ou IgM et/ou IgA, retenus par la phase solide.

- 3- La présence de l'enzyme immobilisée sur les complexes est révélée par incubation en présence du substrat après élimination de la fraction de conjugué restée libre.
- 4- Après arrêt de la réaction, la lecture s'effectue au spectrophotomètre à 450/620-700 nm.

L'absorbance observée pour un échantillon permet de conclure quant à la présence ou l'absence d'anticorps anti-VIH1 et/ou VIH2.

I-2-3 Matériels nécessaires :

- ✓ Eau distillée
- ✓ Hypochlorites de sodium et bicarbonate de sodium.
- ✓ Pipettes, multipipettes automatique, réglable ou fixe.
- ✓ Epprouvettes graduées 25ml ; 1000ml.
- ✓ Conteneur de déchets contaminés.
- ✓ Bain-marie, ou incubateur sec.
- ✓ Appareil de lavage.
- ✓ Appareil de lecture pour microplaques.
- ✓ Papier absorbant.

I-2-4 Réactifs utilisés :

- ✓ Microplaque : 12 barrettes de 8 cupules sensibilisées avec un antigène VIH1 et VIH2 purifiés.
- ✓ Solution de lavage concentrée 10 fois.
- ✓ Sérum de contrôle négatif (humain).
- ✓ Sérum de contrôle seuil (humain).
- ✓ Sérum de contrôle positif (humain).
- ✓ Diluant des échantillons.
- ✓ Conjugué ; antigène VIH1 et VIH2 purifiés marqués à la peroxydase, lyophilisés.
- ✓ Diluant du conjugué.
- ✓ Tampon pour substrat de la peroxydase ; solution de citrate de sodium et d'acétate de sodium PH 4,0, contenant 0,015% d'H₂O et 4% de DMSO
- ✓ Chromogène : solution contenant de la tetrametyl benzidine (TMB)
- ✓ Solution d'arrêt ; acide sulfurique 1N.
- ✓ Feuilles adhésives pour microplaques.

I-2-5 Mode opératoire :

- 1- Etablir soigneusement le plan de distribution et d'identification des échantillons.
- 2- Préparer la solution de lavage diluée,
- 3- Sortir le cadre support et les barrettes de l'emballage protecteur,
- 4- Déposer directement, sans prélavage de la plaque, successivement :
 - 4-1/ 25µl de diluant dans chaque cupule.
 - 4-2/ 75µl de sérum de contrôle négatif en A1
75µl de sérum de contrôle seuil en B1, C1 et D1
75 µl de sérum de contrôle positif en E1
75µl du premier échantillon en F1
75µl du deuxième échantillon en G1, etc...

Il est possible de modifier la position des contrôles en fonction des systèmes utiliser.

Homogénéiser le mélange par 3 aspirations minimum avec la pipette de 75µl ou en agitant la microplaque après l'étape de pipetage.

- 5- Lorsque cela est possible, couvrir d'un film autocollant en appuyant bien sur toute la surface pour assurer l'étanchéité.
- 6- Incuber la microplaque au bain-marie thermostaté ou dans un incubateur sec de microplaques pendant 30 +/- 5 minutes à 37°C +/- 1°C.
- 7- Retirer le film adhésif. Et passer au lavage automatique.
- 8- Distribuer rapidement 100µl de la solution de conjuguer dans toutes les cupules. Le conjugué doit être agité avant emploi.
- 9- Recouvrir la microplaque d'un film neuf. Incuber 30 +/- 5 minutes à la température ambiante (18-30°C).
- 10- Retirer le film adhésif, vider toutes les cupules par aspiration et laver au moins 5 fois au lavage automatique comme précédemment. Le volume résiduel doit être inférieur à 10µl.
- 11- Distribuer rapidement dans toutes les cupules 80µl de la solution de révélation de l'activité enzymatique (tampon substrat+solution chromogène concentrée), Préalablement préparée. Laisser la réaction se développer à l'obscurité pendant 30 +/- 5 minutes à température ambiante (18 à 30°C). lors de cette incubation, ne pas utiliser de film adhésif.
La distribution de la solution de révélation, qui est colorée en rose, peut être contrôlée visuellement à ce stade de manipulation : il y a une différence de coloration significative entre une cupule vide et une cupule contenant la solution de révélation rosée.

- 12- Ajouté 100µl de la solution d'arrêt en adoptant la même séquence et le même rythme de distribution que pour la solution de révélation. Homogénéiser le mélange réactionnel.
- La distribution de la solution d'arrêt, qui est incolore, peut être contrôlée visuellement à ce stade de la manipulation. La coloration du substrat, rosée (pour les échantillons négatifs) ou bleu (pour les échantillons positifs), disparaît des cupules qui deviennent incolores (pour les échantillons positifs) après addition de la solution d'arrêt.
- 13- Essuyer soigneusement le dessous des plaques. Au moins 4minutes après la distribution de la solution d'arrêt et dans les 30minutes qui suivent l'arrêt de la réaction, lire la densité optique à 450/620-700nm à l'aide d'un lecteur de plaques.
- 14- S'assurer avant la transcription des résultats de la concordance entre la lecture et le plan de distribution et d'identification des plaques et des échantillons.

I-3 ELISA Murex – ABBOTT anti-HCV :

Murex anti-HCV (version 4,0) est un test immuno-enzymatique pour la détection des anticorps dirigés contre le virus de l'hépatite C (VHC) dans le sérum ou le plasma humain. (Domaine d'application).

I-3-1 Principe:

Dans le test Murex anti- VHC (version 4,0), l'échantillon dilué est incubé dans les cupules recouvertes d'antigènes hautement purifiés contenant les séquences des régions core, NS3, NS4 et NS5 du VHC. Lors de la première incubation, tout anticorps anti-VHC présent dans l'échantillon se lie aux antigènes immobilisés. Après une étape de lavage destinée à éliminer le matériel non lié, les anticorps anti-VHC liés sont incubés avec des anti-IgG humaine monoclonaux conjugués à la peroxydase.

Lors de la deuxième incubation, le conjugué se lie aux anticorps immobilisés pendant la première étape. Après avoir éliminé le conjugué en excès, l'enzyme liée est détectée par addition d'une solution contenant de la 3,3', 5,5'- tétraméthylbenzidine (TMB) et de l'eau oxygénée. Une couleur violette apparaît dans les cupules qui contenaient des échantillons positifs pour les anticorps anti-VHC.

La réaction enzymatique est stoppée par de l'acide sulfurique qui provoque l'apparition d'une couleur orange dont l'intensité est déterminée par photométrie. La quantité de conjugué lié , et donc l'intensité de la couleur dans les cupules, est directement proportionnelle à la concentration en anticorps anti-VHC présents dans l'échantillon.

I-3-2 Réactifs :

- ✓ Cupules recouvertes d'antigènes : 1 plaque (7F51-01) ou 5 plaques (7F51-02) de 96 cupules recouvertes d'antigènes du VHC purifiés.

Amener les cupules à température ambiante (18 à 30°C) avant de les sortir de leur pochette. Si toute la plaque n'est pas utilisée, replacer les barrettes non utilisées dans leur pochette de conservation d'origine ou dans la pochette en plastique à fermeture hermétique fournie avec le sachet dessiccant, et conserver entre 2 et 8°C jusqu'à 6 mois après la première ouverture.

- ✓ Diluant échantillons : 1 flacon de 20 ml (7F51-01) ou 1 flacon de 100 ml (7F51-02) de tampon contenant des protéines d'origine bovine et porcine.

Conservateurs : Bronidox (0.05%) et azide de sodium (0,1%).

- ✓ Contrôle négatif : 1 flacon contenant 0.8 ml de sérum humain normal dilué dans du tampon contenant ne protéine d'origine bovine. Le sérum humain a été analysé et trouvé non réactif pour les anticorps anti-VHC, anti-VIH-1 et anti-VIH-2 et également non réactif pour l'antigène de surface du virus de l'hépatite B (AgHBs).

Conservateur : Bronidox (0,05%).

- ✓ Contrôle positif anti-VHC : 1 flacon contenant 0.6 ml de sérum humain inactivé, constitué d'anticorps anti-VHC dilués dans du tampon contenant une protéine d'origine bovine. Le sérum humain a été trouvé non réactif pour l'AgHBs et les anticorps anti-VIH-1/VIH-2.

Conservateur : Bronidox (0.05%).

- ✓ Diluant conjugué : 1 flacon (7F51-01) ou 3 flacons (7F51-02) contenant 20 ml de tampon avec des sels inorganiques et une protéine d'origine bovine.

Conservateur : Bronidox (0.05%).

- ✓ Conjugué : 1 flacon (7F51-01) ou 3 flacons (7F51-02) contenant chacun des anticorps (souris, monoclonaux) lyophilisés, dirigés contre l'IgG humaine et marqués à la peroxydase de raifort dans une base protéique d'origine bovine, en quantité suffisante pour effectuer 192 tests.

Reconstituer le conjugué au moins 15 minutes avant son utilisation pour assurer une dissolution complète. Amener un flacon de diluant conjugué à température ambiante.

Tapoter doucement le flacon de conjugué sur la pailleuse pour éliminer tout matériel adhérent au bouchon en caoutchouc. Retirer le bouchon avec précaution et verser le diluant conjugué dans le flacon. Reboucher le flacon et laisser reposer en remuant et en retournant de temps.

Après reconstitution, le conjugué peut être conservé entre 2 et 8°C jusqu'à 7 jours ou congelé sous forme d'aliquots (à une température inférieure ou égale à -15°C) jusqu'à 6 mois. Le conjugué reconstitué peut être congelé/ décongelé jusqu'à 4 fois.

- ✓ Diluant substrat : 1 flacon contenant 35 ml d'une solution incolore de citrate de tri sodium et d'eau oxygénée.
- ✓ Substrat concentré : 1 flacon contenant 35 ml d'une solution rose de 3,3' et 5,5'-tétraméthylbenzidine (TMB) et des stabilisants.
- ✓ Liquide de lavage : 1 flacon (7F51-01) ou 2 flacons (7F51-02) contenant 125 ml de liquide de lavage glycine/ borate concentré (20x). Conservateur : bronidox (0.2%).

Diluer le liquide de lavage au 1/20 avec de l'eau distillée ou désionisée afin d'obtenir le volume requis ou diluer tout le contenu d'un flacon de liquide de lavage pour obtenir un volume final de 2500ml. Le liquide de lavage dilué contient alors 0.01% de conservateur bronidox.

Le liquide de lavage de ce coffret peut être utilisé de manière interchangeable avec le liquide de lavage glycine/ borate de tout autre coffret Abbott Murex. Faire attention au volume de remplissage du flacon et s'assurer de toujours utiliser la dilution correcte (1/20).

Conserver le liquide de lavage à concentration de travail à température ambiante (18 à 30 °C) dans un flacon fermé, ce qui lui permettra de garder son activité pendant 1 mois.

I-3-3 Matériels nécessaires :

- ✓ Solution d'arrêt (acide sulfurique 0.5 à 2 mol/l). ajouter par exemple 3 à 11 ml d'acide sulfurique concentré (18 ml/l) à environ 80 ml d'eau distillée ou désionisée, puis rajouter de l'eau pour un volume final de 100ml. Il est également possible d'utiliser le réactif suivant : acide sulfurique 1N.
- ✓ Pour la dilution du liquide de lavage, pour la préparation de la solution d'arrêt et pour une utilisation avec des systèmes de lavage automatiques, il est nécessaire d'utiliser de l'eau récemment distillée ou de l'eau désionisée de bonne qualité.
- ✓ Micropipettes multicanaux d'un volume approprié (50 à 200µl).
- ✓ Micropipettes pouvant distribuer 20 à 1000µl
- ✓ Bain- marie/ incubateur capable de maintenir la température à 37 °C ± 1°C.
- ✓ Bloc chauffant : à utiliser dans les incubateurs. Le bloc chauffant doit rester de préférence dans l'incubateur utilisé. Si ceci est impossible, il doit être placé dans l'incubateur au moins 4 heures avant de commencer le test.

I-3-4 Mode opératoire

L'addition des différents composants du test dans les cupules peut être confirmée visuellement en observant les couleurs suivantes sur la plaque.

Le diluant échantillons : est de couleur verte/brune. Après addition de l'échantillon ou du contrôle, cette couleur virera au bleu/vert. Ce changement de coloration peut varier d'un échantillon à l'autre mais doit toujours être visible.

Le conjugué : est de couleur brune.

La solution substrat : est initialement rose et devient violette au contact des cupules positives. Après addition de la solution d'arrêt, la couleur violette des cupules positives deviendra orange, alors que les cupules négatives resteront roses.

L'addition de l'échantillon ou du réactif peut être confirmée en utilisant un lecteur pour microplaques comme suit : diluant échantillons plus échantillon lu à 620nm ou 570nm avec une référence à 690nm, conjugué lu à 410 nm avec une référence à 690nm, solution substrat lue à 490 nm (pas de référence).

Etape 1 : Reconstituer le conjugué avec le diluant conjugué et préparer la solution substrat.

Etape 2 : Utiliser uniquement le nombre de barrettes nécessaires pour le test.

Etape 3 : Ajouter 180µl de diluant échantillons dans 180µl chaque cupule.

Etape 4 : Ajouter 20µl d'échantillon ou de contrôle 20µl dans les cupules. Si deux barrettes au plus sont utilisées, pipeter un contrôle négatif dans la cupule A1 et un contrôle positif dans la cupule B1. Si plus de deux barrettes sont utilisées, il est recommandé d'utiliser 2 cupules de contrôle négatif pour plus de sécurité.

Ajouter les contrôles dans les cupules appropriées sur chaque plaque après avoir distribué les échantillons. L'utilisation d'un fond blanc permettra de mieux visualiser l'addition de l'échantillon. Les échantillons et les contrôles doivent être soigneusement homogénéisés avec le diluant échantillons.

Etape 5 : Recouvrir les cupules d'un couvercle et 1 heure incubé pendant 1 heure à 37°C.

Etape 6 : À la fin temps d'incubation, laver la plaque

Etape 7 : Immédiatement après le lavage de la plaque, ajouter 100µl du conjugué dans chaque cupule.

Etape 8 : Recouvrir les cupules d'un couvercle et 30 min incubé pendant 30 minutes à 37°C.

Etape 9 : A la fin du temps d'incubation, laver la plaque

Etape 10 : Immédiatement après le lavage de la plaque, 100µl ajouter 100µl de solution substrat dans chaque cupule

Etape 11 : Recouvrir les cupules d'un couvercle et 30 min incuber pendant 30 minutes exactement à 37°C pendant que la coloration se forme.

Tenir à l'abri de la lumière directe. Une couleur violette devrait apparaître dans les cupules contenant des échantillons positifs.

Etape 12 : Ajouter 50µl de solution d'arrêt (acide sulfurique 0.5 à 2 mol/l) dans chaque cupule.

Etape 13: Lire la densité optique à 450nm dans les 450nm 15minutes en utilisant une longueur d'onde de référence située entre 620 et 690 nm, si disponible. Faire le blanc de l'instrument sur l'air (sans plaque).

I-4 Murex TPHA :

Murex TPHA est un test rapide pour la détection *in vivo* par hémagglutination indirecte des anticorps dirigés contre *Treponema pallidum* dans le sérum ou le plasma humain. Ce kit est utilisé comme test de dépistage initial.

I-4-1 Principe :

Le test Murex TPHA détecte les anticorps dirigés contre *T. pallidum* au moyen d'une méthode d'hémagglutination indirecte (IHA). Des érythrocytes aviaires intacts sont recouverts de composants antigéniques de *T. pallidum* pathogène (souche Nichols). Ces hématies test s'agglutinent en présence d'anticorps dirigés contre *T. pallidum* et présentent des motifs caractéristiques sur des microplaques.

Les anticorps dirigés contre les tréponèmes non pathogènes sont absorbés par un extrait de tréponèmes de Reiter inclus dans la suspension cellulaire. Les résultats sont obtenus en 60 minutes. Les motifs d'agglutination sont faciles à lire.

Pour faciliter l'étape de dilution nécessaire au dosage, un colorant bleu a été ajouté au diluant. Ce dernier change de couleur lorsque l'échantillon est ajouté.

I-4-2 Matériels nécessaires :

- ✓ Micropipettes multicanaux.
- ✓ Microplaques rigides.
- ✓ Agitateur de plaques.
- ✓ Lecteur de microplaques automatisées.
- ✓ Hypochlorite de sodium.

I-4-3 Réactifs utilisés :

- ✓ **Hématies test** : un flacon contenant 75ml ou 13,5ml d'érythrocytes aviaires intacts recouverts d'antigène *T. pallidum* sensibilisées dans du tampon. Conservateur : Azide de sodium (0,1%).

Les hématies test doivent être soigneusement remises en suspension avant l'emploi.

Les hématies test se déposent lors de la conservation. Il est important que celles-ci soient recouvertes de tampon pendant toute la conservation au réfrigérateur (2à8°C).

- ✓ **Diluant** : un flacon contenant 250ml ou 2 flacon contenant 20,5ml de tampon contenant colorant bleu, du sérum de lapin et du stroma d'origine bovine. Conservateur : Azide de sodium (0,1%).
- ✓ **Contrôle positif** : un flacon contenant 0,5ml de sérum humain avec des anticorps dirigés contre *T. pallidum*. Conservateur : Azide de sodium (0,1%).
- ✓ **Contrôle négatif** : un flacon contenant 0,5 ml de sérum humain non réactif pour *T. pallidum*. Conservateur : Azide de sodium (0,1%).

I-4-4 Mode opératoire :

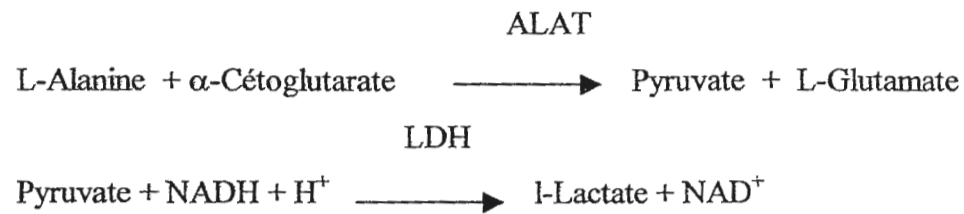
- 1- Essuyer la microplaque avec un chiffon propre et humide afin de neutraliser l'électricité
- 2- Diluer l'échantillon et les contrôles au 1/20°
- 3- Ajouter 25µl d'échantillon ou de contrôle dilué dans les cupules appropriées. Inclure les contrôles positif et négatif dans chaque série de plaques.
- 4- Ajouter 75µl d'hématies test en suspension dans les cupules contenant 25µl d'échantillon ou de contrôle dilué.
- 5- Homogénéiser le contenu de la plaque en tapotant les 4 cotés de la plaque ou à l'aide d'un agitateur de plaques à vitesse élevée pendant 30 secondes.
- 6- Incuber pendant 60 à 75 minutes à température ambiante (15 à 25°C). veillez à garder la plaque à l'abri de la chaleur, de la lumière directe et de toute source de vibration.
- 7- Lire les résultats.

I-5 Biochimie :

➤ **Dosage de transaminases :** La mesure de l'activité des transaminases a été faite par une méthode Enzymatique, U.V, et cinétique.

I-5-1 Alanine Aminotransféase (ALAT) TGP :**Principe :**

Détermination de l'alanine aminotransférase (ALAT) basée sur les recommandations de l'IFCC :



L'activité catalytique des (TGP) Transaminases Glutamo-Pyruvique sérique est déterminée par la mesure de la diminution de la densité optique à 340nm.) Est déterminée en mesurant la vitesse de disparition du NADH à 340nm. ????

Selon ELITECH :**Composition des réactifs :****Réactif 1 :**

Tampon Tris, pH 7,50	121 mmol/l
L-Alanine	660 mmol/l
LDH	≥ 1650 U/l

Réactif 2 :

α-Cétoglutarate	176 mmol/l
NADH	2.64 mmol/l

Réactif de travail :

Préparation et stabilité : Le réactif peut être utilisé en monoréactif ou en bi-réactif.

✓ **Mono-réactif :**

Mélanger 10 volumes de réactif 1 avec 1 volume de réactif 2.

Stabilité : 5 jours à 20-25°C

4 semaines à 2-8°C

✓ **Bi-réactif :**

Les réactifs sont prêts à l'emploi.

Echantillons :

Sérum non hémolysé.

Plasma recueilli sur héparine ou sur EDTA.

Valeurs normales :

A 30°C jusqu'à 35 U/l

A 37°C jusqu'à 49 U/l

Mode Opérateur :

La méthode ci-dessous est la méthode manuelle pour spectrophotomètre.

Ce réactif peut être utilisé sur la plupart des automates. Les adaptations sont disponibles sur demande.

Longueur d'onde	340 nm (334-365)
Température	30°C, 37°C
Cuve	trajet optique 1 cm
Zéro de l'appareil	eau distillée

✓ **Méthode mono-réactif :**

Réactif de travail	1 ml
Echantillon	100 µl

Mélanger et après 1 minute d'incubation, mesurer la variation de densité optique par minute ($\Delta DO/min$) pendant 3 minutes.

✓ Méthode bi-réactif :

R1	1 ml
Echantillon	100 μ l

Mélanger et après 1 minute d'incubation, mesurer la variation de densité optique par minute (Δ DO/min.) pendant 3 minutes.

Selon RANDOX :

Réactifs :

Contenu	Concentrations initiales des réactifs
1-Tampon	
Tampon phosphate	100mmol / l PH7, 4
L-alanine	200mmol / l
α -oxoglutarate	2,0mmol / l
2- 2,4-dinitrophénylhydrazine	2,0mmol / l

Matériels nécessaires :

- ✓ contrôle multiparamétrique titré Randox niveau2 et niveau3 ou le contrôle multiparamétrique Randox niveau 1, niveau 2 et niveau3.

Mode opératoire :

Longueur d'onde	Hg 546 nm (530- 550nm)
Cuve	1 cm de chemin optique
Température	37°C

1- Mesure contre le blanc réactif :

Introduire dans les tubes à essai:

	Blanc réactif	Echantillon
Echantillon	-	0,1 ml
Solution 01	0,5 ml	0,5ml
Eau distillée	0,1ml	-

Mélanger, incuber exactement 30 minutes à 37°C.

Solution2	0,5ml	0,5ml
-----------	-------	-------

Mélanger, attendre exactement 20 minutes à 20-25°C

Hydroxyde de sodium	5,0ml	5,0ml
---------------------	-------	-------

Mélanger, lire l'absorbance de l'échantillon (A échantillon) contre le blanc réactif après 5 minutes.

2- Mesure contre le blanc échantillon :

Introduire dans des tubes à essai :

	Blanc échantillon	Echantillon
Echantillon	-	0,1 ml
Solution 01	0,5 ml	0,5ml

Mélanger, incuber exactement 30 min à 37°C.

Solution 02	0,5 ml	0,5 ml
Echantillon	0,1 ml	-

Mélanger, attendre exactement 20 min à 20-25°C.

Hydroxyde de sodium	5,0ml	5,0ml
---------------------	-------	-------

Mélanger, lire l'absorbance de l'échantillon (A échantillon) contre le blanc échantillon après 5min.

Valeurs usuelles :

Sérum jusqu'à 12 U / l

I-5-2 Aspartate amino transférase (ASAT) : TGO**Principe :**

Détermination de l'aspartate aminotransférase (ASAT) basée sur les recommandations de l'IFCC:



MDH = Malate déshydrogénase.

Selon ELITECH

Composition des réactifs**Réactif 1 :**

Tampon Tris, pH 7.80	97 mmol/ L
L-Aspartate	286 mmol/ L
LDH	≥ 1650 U/ L
MDH	≥ 990 U/ L

Réactif 2 :

α-Cétoglutarate	132 mmol/ L
NADH	2,64 mmol/ L

Réactif de travail :**Préparation et stabilité**

Le réactif peut être utilisé en mono ou biréactif.

- **Mono-réactif :**

Mélanger 10 volumes de réactif 1 avec 1 volumes de réactif 2.

Stabilité : 5 jours à 20- 25°C.

4 semaines à 2- 8°C.

- **Bi-réactif :**

Les réactifs sont prêts à l'emploi.

Echantillons

Sérum non hémolysé.

Plasma recueilli sur héparine ou sur EDTA.

Valeurs normales

A 30°C jusqu'à 30 U/L

A 37°C jusqu'à 46 U/L

Mode opératoire

La méthode ci-dessous est la méthode manuelle pour spectrophotomètre.

Ce réactif peut être utilisé sur la plupart des automates.

Les adaptations sont disponibles sur demande.

Longueur d'onde	340 nm (334-365)
Température	30°C, 37°C
Cuve	Trajet optique 1 cm
Zéro de l'appareil	Eau distillée

• Méthode mono-réactif :

Réactif de travail	1 mL
Echantillon	100 µL

Mélanger et après 1 minute d'incubation, mesurer la variation de densité optique par minute ($\Delta DO/ \text{min}$) pendant 3 minutes.

• Méthode bi-réactif :

R1	1 mL
Echantillon	100 µL

Mélanger et attendre 1 minute

R2	1 mL
----	------

Mélanger et après 1 minute d'incubation, mesurer la variation de densité optique par minute ($\Delta DO/ \text{min}$) pendant 3 minutes.

Selon RANDOX

Réactifs :

Contenu	Concentrations initiales des réactifs
1-Tampon	
Tampon phosphate	100mmol / l PH7, 4
L-aspartate	100mmol / l
α -oxoglutarate	2,0mmol / l
2- 2,4-dinitrophénylhydrazine	2,0mmol / l

Mode opératoire :

Longueur d'onde	Hg 546 nm (530- 550nm)
Cuve	1 cm de chemin optique
Température	37°C

3- Mesure contre le blanc réactif :

Introduire dans la cuve de mesure :

	Blanc réactif	Echantillon
Echantillon	-	0,1 ml
Solution 01	0,5 ml	0,5ml

Mélanger, incuber exactement 30 minutes à 37°C.

Solution 02	0,5 ml	0,5 ml
-------------	--------	--------

Mélanger, attendre exactement 20 minutes à 20-25°C

Hydroxyde de sodium	5,0 ml	5,0 ml
---------------------	--------	--------

Mélanger, lire l'absorbance de l'échantillon contre le blanc réactif après 5 minutes.

4- Mesure contre le blanc échantillon :

Introduire dans des tubes à essai :

	Blanc échantillon	Echantillon
Echantillon	-	0,1 ml
Solution 01	0,5 ml	0,5ml

Mélanger, incuber exactement 30 min à 37°C.

Solution 02	0,5 ml	0,5 ml
Echantillon	0,1 ml	-

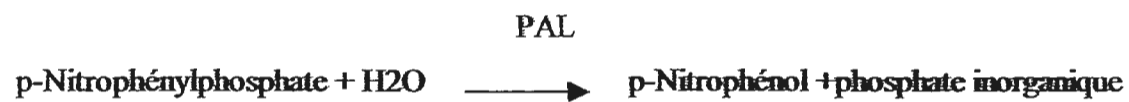
Mélanger, attendre exactement 20 min à 20-25°C.

Hydroxyde de sodium	5,0 ml	5,0 ml
---------------------	--------	--------

Mélanger, lire l'absorbance de l'échantillon (A échantillon) contre le blanc échantillon après 5 min.

Valeurs usuelles :

Sérum jusqu'à 12 U / L

I-5-3 Dosage de la phosphatase alcaline :**Méthode Enzymatique.** Tampon diéthanolamine. (Cinétique).**Principe :** Détermination de la phosphatase alcaline (PAL) selon les recommandations DGKC et SCE :

Selon ELITECH :**Composition des réactifs****Réactif 1 :**

Tampon diéthanolamine, pH 10.2	1 mol / l
Chlorure de magnésium	0.5 mmol / l

Réactif 2 :

p-Nitrophénylphosphate	10 mmol / l
------------------------	-------------

Echantillons :

Sérum non hémolysé.

Plasma recueilli sur héparine.

Valeurs normales :

	L'incubation 37° C
Enfants	180 – 1200 U/l
Adultes	100 – 290 U/l

Mode opératoire :

La méthode ci-dessous est la méthode manuelle pour spectrophotomètre. Ce réactif peut être utilisé sur la plupart des automates.

Les adaptations sont disponibles sur demande.

Longueur d'onde	405 nm (410)
Température	37°C, 30°C, 25°C
Cuve	trajet optique 1 cm
Zéro de l'appareil	eau distillée

Réactif de travail	1 ml
échantillon	20 µl

Mélanger et après 1 minute d'incubation, mesurer la variation de densité optique par minute ($\Delta DO/min$) pendant 3 minutes.

Selon RANDOX**Réactifs :**

Contenu	Concentration dans le test
Tampon : 2-amino-2-méthyl-1-propanol	0.9 mol/l , pH 10,5
2- Substrat : p- nitrophénylphosphate	16 mmol/l
Mg⁺⁺	1,0 mmol/l

Matériel nécessaire: pipette de 20 µl à 5 ml selon le coffret utilisé.

Spectrophotomètre muni des longueur d'onde 400-420nm.

Cuves – celles recommandées par le fabricant de l'appareil (trajet optique spécifié).

Solution NaCl à 0.9% pour les éventuelles dilutions d'échantillons.

Bain thermo staté pour maintenir la température à 30°C ou 37°C

Mode opératoire :

Longueur d'onde	405nm
Cuve	1 cm de trajet optique
Température	30° C/ 37°C
Mesure	Contre l'air

Pipeter dans la cuve

	macro	Semi Micro
Echantillon	0,05 ml	0,02 ml
Réactif	2,50 ml	1,00 ml

Mélanger, lire l'absorbance initiale et démarrer le chronomètre simultanément . lire à nouveau après 1,2 et 3 minutes.

Déterminer la moyenne des Δ Abs/min et utiliser cette valeur dans les calculs

Valeurs normales

Enfants 3-15 ans	117-390 U/l	37°C
Adultes	39-117U/l	37°C

I-5-4 Dosage de la bilirubine : Totale/ Directe

Selon ELITECH

La bilirubine est le produit de dégradation de l'hémoglobine. Localisée et catabolisée essentiellement dans le foie puis éliminée dans les urines et fèces, elle est connue par son pigment caractéristique de la couleur jaune du nouveau-né et du jeune enfant (ictère physiologique du à une immaturation hépatiques).

Principe :

L'acide sulfanilique réagit avec le nitrite de sodium pour donner de l'acide sulfanilique diazoté. En présence de diméthylsulfoxyde (DMSO), la bilirubine totale se couple avec l'acide sulfanilique diazoté pour donner l'azobilirubine. En absence de DMSO, seule la bilirubine directe réagit (bilirubine conjuguée).

Composition des réactifs :

1- Bilirubine totale :

Réactif 1 :

Acide sulfanilique	28,9 mmol/l
Acide chlorhydrique	165 mmol/l
Diméthylsulfoxyde	7 mol/l

Réactif 2 :

Nitrite de sodium	43 mmol/l
-------------------	-----------

2- Bilirubine directe :

Réactif 1 :

Acide sulfanilique	28,9 mmol/l
Acide chlorhydrique	165 mmol/l

Réactif 2 :

Nitrite de sodium	43 mmol/l
-------------------	-----------

Calibrateur : Le calibrant n'est pas inclus dans le Kit. Il est vendu séparément sous la référence BIEN- 4050.

Réactifs de travail :

Préparation : Les réactifs sont prêts à l'emploi.

Echantillons :

Sérum non hémolysé.

Plasma recueilli sur héparine.

Valeurs normales :

Bilirubine totale	< 10 mg / l
	< 1,0 mg / dl
	< 17 μ mol / l
Bilirubine directe	< 3 mg / dl
	< 0,3 mg / l
	< 5,1 μ mol / l

Mode Opérateur :

La méthode ci-dessous est la méthode manuelle pour spectrophotomètre. Ces réactifs peuvent être utilisés sur la plupart des automates.

Les adaptations sont disponibles sur demande.

Longueur d'onde	555 nm (530-580)
Température	37°C
Cuve	trajet optique 1 cm.

1- Bilirubine totale

	Blanc Echantillon	Dosage Echantillon	Blanc Calibrateur	Dosage Calibrateur
Réactif 1	1,5 ml	1,5 ml	1,5 ml	1,5 ml
Réactif 1	-	50µl	-	50µl
Echantillon	100µl	100µl	-	-
Echantillon	-	-	100µl	100µl

Mélanger et lire la densité optique (DO) après 5 minutes d'incubation. La coloration finale est stable au moins 1 heure.

2- Bilirubine directe

	Blanc Echantillon	Dosage Echantillon	Blanc Calibrateur	Dosage Calibrateur
Réactif 1	1,5 ml	1,5 ml	1,5 ml	1,5 ml
Réactif 1	-	50µl	-	50µl
Echantillon	100µl	100µl	-	-
Echantillon	-	-	100µl	100µl

Mélanger et lire la densité optique (DO) après 5 minutes d'incubation. La coloration finale est stable au moins 1 heure.

Résultats et Interprétation

Investigation sérologique :

Notre séjour au PTS (poste de transfusion sanguine) de Jijel avait pour but d'enquêter en un laps de temps bien déterminé qui s'étalait du 01/04/2005 au 15/06/2005, sur les donneurs de sang éventuellement porteur d'Ag HBS.

Il est clair qu'au PTS comme dans tout centre de transfusion sanguine, les règles de préventions sont respectées, elles reposent sur l'application des règles de sécurité transfusionnelle c'est-à-dire :

- ✓ La sélection des donneurs de sang ; en excluant les sujets appartenant aux groupes exposés ; ainsi à Jijel, on a pu constater que chaque nouveau donneur subit un interrogatoire (présent ci-dessous) par le médecin consultant au sein du service, lui demandant ainsi des informations sur sa santé ; s'il présente des vertiges, des migraines, ou alors si il a déjà fait don de son sang auparavant;
- ✓ Le dépistage systématique des marqueurs viraux avant la transfusion sanguine. En Algérie seule la recherche de l'Ag HBS, des anticorps anti-VHC, anti-VIC et le test de la syphilis sont obligatoires. Mais, dans le souci d'améliorer la sécurité transfusionnelle;
- ✓ Le dépistage systématique des groupes sanguins (système ABO et système rhésus) avant la transfusion sanguine.

Parmi les 1540 donneurs de sang, les résultats de l'enquête sérologique, ont permis de révéler cinq cas atteints d'une hépatite virale B; sur lesquels on fera notre étude.

II- Résultats et Interprétations :

II-1 Résultats :

Cas N° 01 : Il s'agit du donneur R.T, de sexe masculin, âgé de 31 ans ;

Tableau 06 : Résultats sérologique et Biochimique du donneur N°01

Date de consultation	Biochimie				Sérologie					
	Ag HBs	Ac HCV	Ac HIV	TPHA	Transaminases U/l		PAL U/l	Bilirubine mg/l		
					TGO	TGP		T	D	ID
Le 02/03/05	+	-	-	-	<46 U/l	< 49 U/l	100-290 U/l	<10 mg/l	< 3mg/l	<1mg/l
Le 28/05/05	+	-	-	-	40	13	96	18	-	-
Le 28/05/05	+	-	-	-	32	37	72	08	-	-

Cas N° 02 : Il s'agit du donneur L.R, de sexe masculin, âgé de 25 ans ;

Tableau 07 : Résultats sérologique et Biochimique du donneur N°02

Date de consultation	Biochimie				Sérologie					
	Ag HBs	Ac HCV	Ac HIV	TPHA	Transaminases U/l		PAL U/l	Bilirubine mg/l		
					TGO	TGP		T	D	ID
Le 03/01/05	+	-	-	-	<46U/l	< 49U/l	T100-290 U/l	<10 mg/l	< 3mg/l	<1mg/l
Le 03/01/05	+	-	-	-	83	110	340	02	-	-
Le 23/01/05	+	-	-	-	65	91	-	-	-	-
Le 07/03/05	+	-	-	-	90	110	-	-	-	-
Le 17/04/05	+	-	-	-	51	51	-	-	-	-
Le 08/05/05	+	-	-	-	40	71	-	04	01	03

Cas N° 03 : Il s'agit du donneur G.B, de sexe masculin, âgé de 34 ans ;

Tableau 08 : Résultats sérologique et Biochimique du donneur N°03

Date de consultation	Biochimie				Sérologie					
	Ag HBs	Ac HCV	Ac HIV	TPHA	Transaminases U/l		PAL U/l	Bilirubine mg/l		
					TGO	TGP		T	D	ID
					< 12 U/l	< 12 U/l	39-290U/l	< 10mg/l	<3U/l	< 1U/l
Le 19/03/05	+	-	-	-	53	87	-	-	-	-
Le 05/04/05	+	-	-	-	20	45	-	-	-	-
Le 12/05/05	+	-	-	-	19	25	171	21	06	15

Cas N° 04 : Il s'agit du donneur B.M, de sexe masculin, âgé de 39 ans ;

Tableau 09 : Résultats sérologique et Biochimique du donneur N°04

Date de consultation	Biochimie				Sérologie					
	Ag HBs	Ac HCV	Ac HIV	TPHA	Transaminases U/l		PAL U/l	Bilirubine mg/l		
					TGO	TGP		T	D	ID
					< 12 U/l	< 12 U/l	39-117U/l	< 10mg/l	<3U/l	< 1U/l
Le 02/06/05	+	-	-	-	07	10	77	13	-	-

Cas N° 05 : Il s'agit du donneur B.S, de sexe masculin, âgé de 20 ans ;

Tableau 10 : Résultats sérologique et Biochimique de donneur N°05

Date de consultation	Biochimie				Sérologie					
	Ag HBs	Ac HCV	Ac HIV	TPHA	Transaminases U/l		PAL U/l	Bilirubine mg/l		
					TGO	TGP		T	D	ID
					< 12 U/l	< 12 U/l	39-117U/l	< 10mg/l	< 3U/l	< 1U/l
Le 11/06/05	+	-	-	-	07	09	309	14	09	05

II-2 :Interprétation :

Cas n° 01 :

Le donneur n° 01 ne présente aucun signe clinique. Sur le plan sérologique, on a constaté que le premier cas répond positivement au dépistage de l'Ag HBs, le résultat de la recherche (des Ac-HVC, Ac-HIV, TPHA) est négatif pour les trois tests.

Le bilan biochimique a révélé :

- Un taux des transaminases (TGO et TGP) normal ; lors du premier test, il est de l'ordre de 40 U/l et 13 U/l, de 32 et 37 U/l lors de la deuxième consultation, ces valeurs sont dans les limites sûr des valeurs usuelles (valeur normale TGO \leq 46 U/l, TGP \leq 49 U/l) (ELITECH).
- Le dosage de la phosphatase alcaline a donné un résultat normal, elle est de (96 U/l) ; notons que la valeur normale est comprise entre 100 et 290 U/l.
- Le taux de la bilirubine lors de la première consultation était de 18mg/l ; valeur un peu élevée, néanmoins, on peut constater sa diminution, pour atteindre 8mg/l.

Cas n° 02 :

La consultation de ce donneur révèle les symptômes suivants : fatigue, douleurs abdominales, asthénie.

Son premier don, c'est avéré qu'il y a portage de l'Ag HBs, cela est détecté par le test ELISA; le résultat de la recherche des (Ac HCV, Ac HIV, Ac TPHA) dans son sang est négatif.

Ensuite, ce donneur de sang a subi cinq consultations successives en l'espace de 5 mois; sérologiquement, on a constaté que :

- le résultat de l'Ag HBs reste toujours positif; celui de la recherche des (Ac HCV, Ac HIV, Ac TPHA) est négatif.

Sur le plan biochimique; le donneur présente:

- Des transaminases élevées par rapport à la norme (ELITECH), leurs valeurs diffèrent d'une consultation à une autre, mais, elles restent toujours élevées, elles sont de moyenne de 66 U/L pour la TGO et de 87 U/L pour la TGP.(valeur normale TGO \leq 46 U/l, TGP \leq 49 U/l) .
- Le taux des phosphatases alcalines est très élevé, il est de 340 U/L. (la valeur normale est comprise entre 100 et 290 U/l.) (ELITECH)
- Tandis que la valeur de la bilirubine est normal (4mg/l).

Conclusion

Conclusion

*L'*objectif de cette thèse était la mise en évidence de l'Ag HBs chez les donneurs de sang au sein du PTS de Jijel, en utilisant la méthode ELISA. La transmission du virus de l'hépatite virale B est principalement parentérale, représentée par la transfusion sanguine et la toxicomanie par voie veineuse.

Les sujets contaminés constituent un danger non seulement pour les malades transfusés, mais aussi pour l'ensemble de la population de Jijel. Les analyses effectuées sur les donneurs de sang affirment que 0,32 % des donneurs sont des cas infectés par le virus de l'hépatite B.

Environ 25% de ces sujets atteints développe ou développera une hépatite chronique active. Cette dernière évolue en 10 à 15 ans vers une cirrhose et 1% d'entre elle vers un cancer hépatique.

Le diagnostic repose sur la détection d'antigène HBs par la méthode immuno-enzymatique (ELISA) et le dosage des transaminases.

Ce travail a pu montrer qu'à coté du vaccin de l'HBV, le dépistage de l'Ag-HBs par la méthode immuno-enzymatique (ELISA) doit être l'arme essentielle et efficace, d'autant plus qu'il existe contre l'HBV afin de limiter sa diffusion au sein de la population de Jijel.

Il convient d'optimiser ce dépistage par l'utilisation systématique de deux tests différents : (**Pasteur** « Monolisa » et **Abbott** « Murex »).

Références Bibliographiques

- [01] **EMC** : Pariente A Références Médicales Opposables concernant la sérologie de l'Hépatite Virale ;
Encyclopédie Médicochirurgical (ELSEVIER PARIS) ; Hépatologie ; Fa 7-015-B-30 ; 1999
- [02] **Guide des Analyses Spécialisées** ; Laboratoire Pasteur CERBA ; 2003. 08p
- [03] **Guide pratique des Hépatites Virales** ;
J.J. Lefrère, F. Lunele, P. Marcellin, J.M. Pvilotsky, J.P. Zarski ; 1997. 3-65
- [04] **Virologie Médicale** ; Presse Universitaire de Lyon ; 2002.
- [05] **Traité de Virologie Médicale** ;
J.M. Hureau, J. C. Nicolas, H. Agust, H. Peigue-Lafeuille ; 1979. 12p
- [06] **Hépatites Virales** ; hépato-gastroentérologie ;
C. Trépo, D. Valla ; 1993. 25-155
- [07] **Feuillets de Biologie** ; Juillet 1999. 25-34
- [08] **Feuillets de Biologie** ; juillet 1997. 25-35
- [09] **Médecine & Hygiène** ; 3 mars 1993.p 502, 503, 504, 505
- [10] **La Revue du Praticien** ; Médecine générale ; 1 février 1988. p 34, 35, 36
- [11] **Revue du Praticien** ; virus de l'hépatite B ; 4 octobre 1995.
- [12] **Revue du Praticien** ; 23 juin 1997.
- [13] **Revue de la Recherche : le VHB** ;
P.Thiollais, J. Anne ; 1985. 171, 1324-132
- [14] **Medecine. Enseignement des Centres Hospitalo-universitaire : Hépatologie** ;
P. Obraska, L. perlemuter, J. Quevauvilliers ; 1973. 63 : 341
- [15] **Colloque de Virologie de Versailles** ;
J. Coste et B. Mercier ; 12 et 13 octobre 2000
- [16] **Les Hépatites Virales** ;
S. Poli ; Dolin ; 1996. 61 :159
- [17] **Principes de Médecines Interne** ;
T.R. Harrison, D.H. Alperes, K.J. Isselbacher, Tome 2
6ème édition Flammarion, Médecine, Science ; 1992.
- [18] **Hépto gastroentérologie** ;
J.P Zarsky, V. Leroy, M. Maynard-Muet,
Département d'Hépto gastroentérologie, CHU Hôpital Albert Michalon ; 1998. 791-797, 1609-1614
- [19] **Introduction à la Microbiologie de TORTORA** ;
Funk et Case, L. Martin ; 2003 ; édition ERPI. P 776, 777, 778.

- [20] **Hépatite Virales les agents responsables : Virus de l'Hépatite B** : Encyclopédie Médecine, Chirurgie, Foi, Pancréas ;
B. Bouvet, L. Bertrant ? 1984
- [21] **L'encyclopédie : la santé de A à Z** ; volume 4 ; édition HACHETTE ; 1994
- [22] **L'encyclopédie de la santé de A à E** ; volume 5 ; édition HACHETTE ; 1994
- [23] **Nouveau Larousse Médicale** ;
A. Domart, J. Bourneuf ; 1990
- [24] **Maladies Infectieuses** ;
C. Perronne ; Doin ; 1996. p 17, 18
- [25] **Les Hépatites Virales A, B, C, D, E et F** ;
M. Belataf, F. Boukrine, J-P Grangaud. 2001. 17-89
- [26] **Les Immunodosages, de la théorie à la pratique** ;
Y. Barbier ; édition de l'ACOMEN. 1989. p127, 128, 129.
- [27] **Virologie Moléculaire** ;
M. Girard et L. Hirth ; édition Doin ; 1989.
- [28] **Hépto Gastro : l'infermière en Hépto-Gastro-Entérologie** ;
D. Labayle ; 2ème édition, édition Lemarre ; 1994. p 221, 223, 224, 225
- [29] **Médecine Tropicale** ;
E. Caumes, M. Danis, J. Mouchet, B.Duflo, B. Lagardere, D.R. Lenoble, G. Bruker ; Médecine Science
5ème édition ; 1999. 559, 560, 561, 562, 563
- [30] **EMC (Elsevier, Paris) Hépatites Virales** ;
S. Pol, H. Fonaine ; Maladies Infectieuses 8-065-F-10, Pédiatrie, 4-310-C-10 ; 1998
- [31] **Immunologie** ;
I.M. ROITT, J. BROSTOFF, D. K. MALE; 3ème édition; 1994.p 256,257.
- [32] **Manuel de techniques Virologiques** ;
Pierre PAYMENT, Michel TRUDEL ; 1989, p149, 150, 152,153.
- [33] **Médecine Digest** ; Volume XVIII, N°7 ; Juillet 1992. p15, 16, 17
- [34] **Médecine Digest** ; Volume XVII, N°5 ; Mai 1991. p 11, 12
- [35] **Médecine Digest** ; Volume XVII, N°1 ; Janvier 1991. p 6, 7
- [36] **Médecine Digest** ; Volume XIX, N°6 ; Juin 1993. p 17, 18, 19, 20
- [37] **Médecine Digest** ; Volume XVII, N°7 ; Juillet 1991. p 17
- [38] **Médecine Digest** ; Volume XVI, N°11 ; Novembre 1990. p 15,16, 18, 19, 21
- [39] **Médecine Digest** ; Volume XVII, N°11 ; Novembre 1991. p15
- [40] **Médecine Digest** ; Volume XXVII, N°1 ; Janvier 2001. p 3
- [41] **Médecine Digest** ; Volume XVI, N°4 ; Avril 1990. p 6, 7

[42] Les urgences médicales ;

A. Larcen et Mc. Laprevote – Heully, El-Khezna édition; 1993

[43] Précis de Sémiologie ;

R.M. Hamladji, office des publications universitaires; 1996

[44] Hépatites Virales ; Dépistage, Prévention, Traitement, édition INSERM ; 1997. 48 : 265

[45] Virologie Humaine ;

H.J.A. Fleiry, 3ème édition ; MASSON ; 1999

[46] Les Hépatites Virales ;

C. Eugène ; MASSON ; 2000. 97-115

[47] Médecine & Hygiène ; 4 mai 1994. 995, 1000, 1001, 1002,1006

[48] Médecine : Enseignement des centres hospitalo- univrsitaires ;

P. Obraska, L. Perlemuter, J. Quevauvilliers ; MASSON ; 1970. 96, 97, 98, 102

[49] Les Radioisotopes au service du diagnostic médical ;

J. Ingraud, M. Hégésippe ; MASSON ; 1975. 69-72

Sites Internet :

<http://www.larecherche.fr>

<http://www.elsevier.fr>

<http://hepatoweb.com>

<http://www.oms.fr>

<http://www.chu-rouen.fr>

<http://www.inist.fr>

Glossaire

Glossaire

Lymphocyte : n.m. Variété de leucocyte ; ont un rôle immunitaire ils entrent en contact avec les antigènes et mettent en jeu les réactions de défense appropriées.

Cirrhose : n.f. Maladie du foie caractérisée par des lésions comprenant une sclérose, des nodules de régénération et une altération présente ou passée des cellules.

Urticaire : n.f. Eruption d'aspect analogue à celle que provoque la piqûre d'une ortie, elle se manifeste par des élévures de taille variable, parfois étendues en vastes placards, de couleur rosée.

Arthralgie : n.f. Douleur siégeant au niveau des articulations ou dans les articulations elles-mêmes, sans modification de l'apparence extérieure de la jointure.

Arthrite : n.f. Toute affection inflammatoire aiguë ou chronique qui frappe les articulations, sans préjuger de la cause. ; On peut distinguer le groupe des rhumatismes inflammatoires, et le groupe des arthrites infectieuses, qui peuvent être rattachées à une infection bien déterminée.

Ictère : n.m. Teinte jaune de la peau, due à l'imprégnation des tissus par la bilirubine. Cette coloration est appréciable lorsque la bilirubinémie est supérieure à 20mg par litre. C'est sur les conjonctivites (blanc de l'œil) qu'elle est le plus précocement détectable.

Biopsie hépatique : Elle peut être chirurgicale et fournit alors un fragment assez volumineux nécessaire à certain diagnostic. Dans l'immense majorité des cas, on se contente d'une biopsie à l'aiguille, parfois sous contrôle laparoscopique. Elle peut être extrêmement précieuse pour le diagnostic des affections hépatiques, ou même pour celui d'affections générales sans localisation hépatique évidente.

Fibrose : n.f. Transformation d'un tissu. Fibrose hépatique congénitale ; anomalie constitutionnelle des voies biliaires intrahépatiques, le plus souvent associée à une anomalie rénale.

Nécrose : n.f. Mort tissulaire (syn. Mortification). Il existe plusieurs types de nécrose selon l'agent causale : microbien, vasculaire ou traumatique.

Asthénie : n.f. Diminution des forces. Le terme asthénie désigne tous les cas dans lesquels l'organisme ne réagit pas convenablement aux excitations. Presque toujours le système nerveux est en cause, même quand il s'agit d'asthénie locale, mais une insuffisance des glandes endocrines peut intervenir.

Percutané : adj. Qui se produit ou est fait à travers la peau.

Cytolyse : n.f. Destruction des cellules. Elle se fait physiologiquement et passe inaperçue lorsqu'une cellule a fini de remplir son rôle ou est usée.

Encéphalopathie : n.f. Terme générique que l'on pourrait appliquer à toutes les maladies de l'encéphale (ensemble des organes nerveux contenus dans la boîte crânienne).

Sépsis : (syn Sépticémie) : Etat pathologique dû à la présence et à la multiplication de microbes dans le sang.

Immunodépresseur : adj. Qui diminue ou supprime les réactions immunologiques de l'organisme.

Sémiologie : n.f. Partie de la médecine qui étudie les signes cliniques des maladies, qui permettront de caractériser des syndromes et ainsi de faire le diagnostic, le pronostic, et de suivre l'évolution de la maladie.

Prophylaxie : n.f. Partie de la thérapeutique destinée à garantir contre les maladies. L'hygiène, la médecine du travail, les vaccinations sont les éléments essentiels de la prophylaxie.

Thyroïdite : n.f. Inflammation de la glande thyroïde.

Tropisme : n.m. Croissance orientée dans l'espace, chez les végétaux et les animaux, fixés, sous l'influence d'une excitation extérieure.

Parentérale : qui se fait par voie autre que la voie digestive (bouche, rectum), en parlant de l'administration des médicaments.

Virémie : concentration des virus dans le sang.

Carcinome : n.m. Terme vague servant à désigner les variétés de cancer nées ou reproduisant des tissus épithéliaux.

Transaminases : n.f. Enzyme transportant un groupement amine d'un acide aminé à un acide cétonique avec formation d'un nouvel acide aminé et d'un nouvel acide alphacétonique. Le dosage des transaminases TGO et TGP, s'est révélé d'une très grande utilité.

Bilirubine : n.f. Produit jaune, colorant la bile. La Bilirubine est, pour sa plus grande part, le produit de dégradation de la *biliverdine* qui, elle-même, est produite à partir de l'hémoglobine par perte de la globine et du fer.

Annexe

Tableau 11 : Résultats sérologiques et biochimiques des cas positifs

N° de Donneurs	Nom Prénom	Sexe	Age	Date Consultation	SEROLOGIE				BIOCHIMIE							
					Ag HBs	Ac HCV	Ac HIV	Ac TPHA	PAL UI/l	Transaminases U/l		Bilirubine mg/l				
										TGO	TGP	T	D	ID		
01	R.T	M	31	02/03/05	+	-	-	-	96	40	13	18	-	-	ELITECH	
				28/05/05	+	-	-	-	72	32	37	08	-	-		
02	L.R	M	25	03/01/05	+	-	-	-	340	83	110	02	-	-		
				23/01/05	+	-	-	-	-	65	91	-	-	-		
				07/03/05	+	-	-	-	-	90	110	-	-	-		
				17/04/05	+	-	-	-	-	51	51	-	-	-		
				08/05/05	+	-	-	-	-	40	71	04	01	03		
03	G.B	M	34	19/03/05	+	-	-	-	-	53	87	-	-	-		RANDOX
				05/04/05	+	-	-	-	-	20	45	-	-	-		
				12/05/05	+	-	-	-	171	19	25	21	06	15		
04	B.M	M	39	02/06/05	+	-	-	-	77	7	10	13	-	-		
05	B.S	M	26	11/06/05	+	-	-	-	309	07	09	14	09	05		

Thème

Intérêt du dépistage de l'hépatite virale B par la méthode ELISA Chez les donneurs de sang

Nom et Prénom des étudiants :

M^{elle} : Chelgham Karima

M^{elle} : Cheriti Hala

M^{elle} : Zeghouane Atidel

Date de soutenance :

04/07/2005

Résumé

L'hépatite B virale constitue un problème majeur de santé publique. Environ 25% des sujets atteints développe ou développera une hépatite chronique active. Celle-ci évolue en 10 à 15 ans vers la cirrhose et 1% d'entre elle vers le carcinome hépatocellulaire.

La transmission parentérale est principalement représentée par la transfusion sanguine et la toxicomanie par voie veineuse.

Le diagnostic repose sur la détection d'antigène HBs et d'anticorps HBc par des méthodes immunologiques (ELISA) ou de biologie moléculaire (PCR).

Le diagnostic de l'hépatite chronique repose, outre sur une élévation persistante des transaminases, sur une persistance de l'antigène HBs et d'ADN viral détectable dans le sérum avec présence d'antigène Hbe.

Summary

Viral hepatitis B constitutes a major problem of public health. Approximately 25% of the subjects reached develop or will develop active chronic hepatitis. This one evolves into 10 to 15 years towards the cirrhosis and 1% among it to *carcinome hépatocellular*.

The parenteral transmission is mainly represented by the blood transfusion and drug-addiction by venous way.

The diagnosis rests on the detection of *HBs* antigen and *HBc* antibody by immunological methods (*ELISA*) or of molecular biology (*PCR*).

The diagnosis of chronic hepatitis rests, in addition to on a rise persistent in transaminases, a persistence of the *HBs* antigen and of detectable viral ADN in the serum with presence of *Hbe* antigen.