



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE
LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE ABU BAKR BELKAID-TLEMCEEN
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE DE LA VIE
DES SCIENCES DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

CENTRE DE TRANSFUSION SANGUINE

MEMOIRE

Présenté par

M^{elle} CHEKROUN Wassila Amira

En vue de l'Obtention du Diplôme de

MASTER

En : *Génétique « Gestion et Amélioration Des Ressources Biologiques »*

Thème :

*Séroprévalence Du Virus De L'Hépatite B Chez
Les Donneurs De Sang Au Niveau Du Centre De
Transfusion Sanguine De Tlemcen.*

Soutenu le 26 juin 2016 devant le jury composé de :

Président	MOKHTARI Nassima	Pr.	Université de Tlemcen
Encadreur	DEHRI Fethi	Dr.	Université de Tlemcen
Co-Encadreur	ALLAL TAOULI Katia	Pr.	Université de Tlemcen
Examineur	CHERRAK Sabri	M.A.A	Université de Tlemcen

لا يصل الإنسان إلى حقيقة
النجاح دون أن يمر بمحطات التعب
والفشل و اليأس

و صاحب الإرادة القوية لا
يطيل الوقوف عند هذه المحطات.

REMERCIEMENTS

Ce mémoire constitue une riche expérience qui ne peut s'achever sans remercier tout d'abord **ALLAH** le tout Puissant ainsi que toutes les personnes qui m'ont encadrée, aidée et soutenue le long de mon parcours universitaire.

Je souhaite avant tout remercier mon Directeur de Mémoire Dr. **DEHRI Fethi** pour le temps qu'il a consacré à m'apporter les outils méthodologiques indispensables à la conduite de cette recherche. Son exigence m'a grandement stimulée. Il fut pour moi un encadrant attentif et disponible malgré ses nombreuses charges. Sa compétence, sa rigueur scientifique et sa clairvoyance m'ont beaucoup appris. Ils ont été et resteront des moteurs de mon travail à l'avenir .

L'enseignement de qualité dispensé par le Master « **G.A.R.B** » a également su nourrir mes réflexions et a représenté une profonde satisfaction intellectuelle, merci donc aux enseignants-chercheurs et spécialement au Dr. **GAOUAR Souheil** notre chef de formation.

Je tiens à remercier Pr. **ALLAL TAOULI Katia** qui a accepté de m'accueillir en stage au sein de son service au CHU Tlemcen.

Je suis très reconnaissante envers tout le personnel du service « banque de sang » du CHU Tlemcen pour sa collaboration, son soutien et sa générosité tout au long de mon stage.

Mes vifs remerciements vont également vers Dr. **BEGHDADI Fatéma** Maître Assistante en Hémobioologie et transfusion sanguine pour l'aide qu'elle m'a apportée pour la réalisation de cette œuvre.

Finalement J'exprime tous mes remerciements à l'ensemble des membres de mon jury : Pr. **MOKHTARI Nassima** , Dr. **CHERRAK Sabri**, Pr. **ALLAL TAOULI Katia** et Dr. **DEHRI Fethi**..

Je souhaite également adresser mes remerciements les plus sincères aux personnes qui m'ont apporté leur aide et qui ont contribué de loin ou de près à l'élaboration de ce mémoire.

DEDICACES

Cela va de soi, je dédie avec grande émotion mes très chers parents pour leur irremplaçable et inconditionnel soutien. Ils m'ont toujours encouragée à aller vers l'avant dans la vie malgré toute difficulté. Merci d'avoir été là pour écarter les doutes, soigner les blessures et partager les joies. Ce mémoire est aussi le vôtre !.

*Je dédie aussi ce travail à mes chers frères **Kamel**, **Walid** et **Aymen***

*Voilà ! je suis arrivée au bout de mon dernier dédicace, c'est pour toi grand-mère **El Hadja Zakia**, mes oncles, mes tantes et enfin mes cousins et cousines.*

*A mes amies **Assya**, **Fatiha**, **Radia** et **Souhila**.*

<u>TABLE DES MATIERES</u>	I
Liste des figures.....	IV
Liste des tableaux.....	V
Liste des abréviations.....	VI
I Introduction Générale.....	01
II Revue de la littérature.....	04
II.1 L'Hépatite B.....	05
II.1.1 Définition.....	05
II.1.2 Historique.....	05
II.1.2.A Découverte de l'hépatite B.....	05
II.1.2.B Epidémiologie	07
II.1.2.C Taxonomie.....	08
II.1.3 Morphologie et structure génétique du VHB.....	09
II.1.3.A Structure des particules virales.....	09
II.1.3.A.1 Les virions VHB (particules de Dane).....	10
II.1.3.A.2 Organisation génomique	11
II.1.3.B Les protéines du VHB	14
II.1.3.B.1 Les protéines d'enveloppe	14
II.1.3.B.2 Caractéristiques structurales des particules virales	16
II.2 Le cycle de réplication virale	16
II.2.1 Organisation structurale et fonctionnelle de la polymérase du virus de l'hépatite B	17
II.2.2 La transcription.....	20
II.2.3 La traduction.....	20
II.2.4 Mode de transmission du VHB	21
II.2.4.A Transmission sexuelle	21
II.2.4.B Transmission parentérale	22
II.2.4.C Transmission horizontale.....	22
II.2.4.D Transmission périnatale	22
II.3 Histoire naturelle de l'infection par VHB	23

II.3.1. Pathogenèse	23
II.3.2. Profils sérologiques	23
II.3.3. Hépatite aiguë.....	23
II.3.4. Hépatite fulminante.....	24
II.3.5. Hépatite chronique.....	24
II.3.6. Carcinome Hépatocellulaire.....	25
II.4. Diagnostic du HBV	25
II.4.1. Recherche des marqueurs sérologiques	25
II.4.2. Marqueurs directs.....	25
II.4.3. Marqueurs indirects.....	25
II.4.4. Détection et quantification de l'ADN du VHB.....	25
II.5. Traitement de l'hépatite B.....	28
II.6. Prévention	29
<u>III) Matériels et méthode</u>	30
III.1. Matériel.....	31
III.1.1. Cadre de l'étude	32
III.1.2. Population de l'étude.....	33
III.1.2.A. Caractérisation Générale de la population étudiée.....	33
III.1.2.B. Types et Période de l'étude.....	33
III.2. Équipement et réactifs	33
III.2.1. Matériel du Laboratoire.....	33
III.2.2. Réactifs.....	34
III.3. Méthodes	34
III.3.1. Sérologie Virale par la méthode ELIZA.....	34
III.3.1.A Principe de la technique utilisée	34
III.3.1.B. Manipulation.....	35
III.3.1.C. Lecture et Interprétation.....	35
III.4. Chimiluminescence.....	36
III.4.1 Principes.....	36
III.4.2. Outils Statistiques.....	36

IV <u>RESULTATS ET INTERPRETATION</u>	37
V <u>CONCLUSION ET PERSPECTIVES</u>	49
ANNEXES	51
REFERENCES	52

LISTE DES FIGURES:

<u>Figure 1:</u> (A) aborigène australien ; (B) l'antigène Australia par immunodiffusion en milieu gélosé.....	06
<u>Figure 2:</u> Distribution géographique de la prévalence de l'hépatiteB.....	08
<u>Figure 3:</u> Représentation schématique de la structure des particules du HBV.....	10
<u>Figure 4:</u> Structure du virus de l'hépatite B.....	11
<u>Figure 5:</u> organisation du génome du VHB.....	12
<u>Figure 6:</u> Organisation du génome du VHB en phase de lecture.....	13
<u>Figure 7:</u> Organisation du gène codant pour les protéines d'enveloppe.....	15
<u>Figure 8:</u> Topologie prédite des protéines d'enveloppe du HBV.....	16
<u>Figure 9:</u> Cycle de réplication du virus de l'hépatite B	19
<u>Figure 10:</u> Histoire naturelle de l'infection virale B.....	26
<u>Figure 11:</u> Principe de la technique Eliza... ..	35
<u>Figure 12:</u> représentation graphique de la répartition des donneurs du sang selon le sexe.....	38
<u>Figure 13:</u> représentation graphique de la répartition des donneurs de sang selon la tranche d'Age.....	39
<u>Figure 14:</u> représentation graphique de la répartition des donneurs de sang selon le type du don.....	40
<u>Figure 15:</u> représentation graphique de la répartition des donneurs de sang selon le site du don.....	41
<u>Figure 16:</u> représentation graphique de la fréquence de l'hbs chez les donneurs de sang selon le sexe... ..	42
<u>Figure 17:</u> représentation graphique de la fréquence de l'hbs chez les donneurs de sang selon le site du don.....	43
<u>Figure 18:</u> représentation graphique de la fréquence de l'hbs chez les donneurs de sang selon la tranche d'âge.....	44
<u>Figure 19:</u> représentation graphique de la fréquence de l'hbs chez les donneurs de sang selon le type dedonneur.....	45

LISTE DES TABLEAUX

<u>Tableau 1</u> : La répartition des donneurs du sang selon le sexe.....	38
<u>Tableau 2</u> : la répartition des donneurs de sang selon la tranche d'âge.....	38
<u>Tableau 3</u> : la répartition des donneurs de sang selon le type du don.....	39
<u>Tableau 4</u> : la répartition des donneurs de sang selon le site du don.....	40
<u>Tableau 5</u> : la fréquence de l'hbs chez les donneurs de sang selon le sexe.....	41
<u>Tableau 6</u> : fréquence de l'hbs chez les donneurs de sang selon le site du don.....	42
<u>Tableau 7</u> : fréquence de l'hbs chez les donneurs de sang selon la tranche d'âge.....	43
<u>Tableau 8</u> : fréquence de l'hbs chez les donneurs de sang selon le type du donneur.....	44

LISTE DES ABREVIATIONS :

VHB : Virus de l'hépatite B

ADN : Acide désoxyribonucléique

Ag : Antigène e de l'hépatite B

Ag HBs : Antigène de surface de l'hépatite B

CHC : Carcinome hépatocellulaire

ELISA : Enzyme LinkedImmunoSorbentAssay

OMS : Organisation mondiale de la santé

PB : Paire de Base

PCR : Polymerasechainreaction

RT : Rétrotranscriptase

ARN : Acide ribonucléique

Anti-HBc : Anticorps dirigé contre la protéine C du virus de l'hépatite B

Anti-HBe : Anticorps dirigé contre la protéine E du virus de l'hépatite B

Anti-HBs : Anticorps dirigé contre la protéine de surface du virus de l'hépatite B

EDTA : Ethylene–Diamine–Tetra–Aceticacid

KDa : Kilodalton

L : Grande protéine (L = large) d'enveloppe du virus de l'hépatite B

M : Protéine moyenne (M = médium) d'enveloppe du virus de l'hépatite B

Min : Minute

ml : Millilitre

ORF : Open Reading Frame (cadre ouvert de lecture)

ARNm : ARN messenger

DNTPs : Désoxynuléotides triphosphates (ATP, TTP, CTP, GTP)

DR1et DR2 : Direct repeat

CTL : Lymphocyte T cytotoxique

DHBV : Duck Hepatitis B Virus (virus de l'hépatite B du canard)

GiHBV : Gibbon Hepatitis B (virus virus de l'hépatite B du Gibbon)

GoHBV : Gorilla Hepatitis B virus (virus de l'hépatite B du Gorille)

WHBV : Woodchuck Hepatitis B Virus (virus de l'hépatite B de la marmotte)

WMHBV : Wooly Monkey Hepatitis B Virus (virus de l'hépatite B du singe laineux)

INTRODUCTION

I.INTRODUCTION :

L'hépatite B représente la principale cause de pathologie hépatique aiguë ou chronique dans le monde, comme par exemple les cirrhoses ou le carcinome hépatocellulaire.

L'OMS estime à deux milliards le nombre de personnes ayant été exposées à ce virus, soit une personne sur trois, et près de 10 à 30 millions de nouvelles contaminations par an. Le nombre de porteurs chroniques est estimé à plus de 350 millions, avec près de 1 million de décès chaque année. La prévalence du VHB est donc de 5,4 % à l'échelle mondiale, contre 1 % pour celle du VIH et 3 % pour celle du virus de l'hépatite C. Le virus de l'hépatite B est un virus extrêmement contagieux, il est cent fois plus contagieux que le VIH (Virus de l'immunodéficience humaine), et peut rester stable à 25°C pendant sept jours dans du sang séché.[1]

Le VHB se transmet par effraction cutanée ou par contact des muqueuses avec du sang ou d'autres liquides organiques contaminés. Les concentrations les plus élevées du virus se retrouvent dans le sang et les lésions suintantes, alors qu'on relève des concentrations modérées dans le sperme et les sécrétions vaginales, et des concentrations plus faibles dans la salive. Les principales voies de transmission sont :

- Transmission par voie parentérale
- Transmission de personne à personne.
- Transmission de la mère à l'enfant au cours de la période périnatale.

L'infection par le VHB est mondialement répandue mais répartie de façon irrégulière, délimitant trois catégories de zones géographiques: les zones de forte endémicité (>8 % de la population générale est infectée de manière chronique), les zones d'endémicité intermédiaire (2 à 7 % de la population est infectée de manière chronique) et les zones de faible endémicité (< 2 % de la population est atteinte d'infection chronique).

La variabilité du génome du VHB a permis de classer la population du VHB humaine en géotypes dont la répartition à travers le monde est ubiquitaire.

Avant l'introduction du vaccin contre l'hépatite B dans le programme élargi de vaccination (PEV), l'Algérie était un pays considéré, Selon les données de l'OMS, comme ayant une prévalence intermédiaire de l'hépatite B.

L'Algérie est classée comme pays de moyenne endémicité avec un taux de prévalence de l'hépatite B qui varie entre 2 et 8 %. À l'échelle nationale des prévalences 0.4% pour les donneurs de sang et 23.8% chez les hémodialysés.

L'infection par le virus de l'hépatite B est responsable d'une symptomatologie très variée. Le plus souvent, après une période de multiplication virale dont l'un des stigmates est la présence dans le sérum de l'antigène de surface HBs, l'évolution se fait vers la guérison avec disparition de l'antigène HBs et

apparition des anticorps anti-HBs, anti-HBc et anti-HBe. Plus rarement, la réplication du génome viral libre ou intégré au génome cellulaire peut se poursuivre, et une hépatite chronique se développer avec un risque important d'évolution vers la cirrhose. L'Ag HBc et l'Ag HBe sont tous deux les produits de traduction d'un même transcrit. L'initiation de la traduction du précurseur de l'Ag HBe est située 87 nucléotides en amont de celle du précurseur de l'Ag HBc. 87 étant un multiple de 3, la phase de lecture est conservée et les deux précurseurs ont la même extrémité COOH-terminale. Chacun subit une maturation post-traductionnel spécifique, ce qui explique que l'Ag HBe ait finalement une extrémité NH₂-terminale plus longue de seulement 10 acide aminé. L'hépatite fulminante à virus 8 est-elle la traduction clinique d'une mutation du génome viral.[2]

OBJECTIF DE L'ETUDE :

Notre étude a été menée au sein du CHU de Tlemcen et plus précisément au service d'hémiobiologie et banque de sang et s'est étendue du mois d'Avril 2015 au mois d'Avril 2016 dans le but de recherche de la prévalence de l'antigène HBS chez les donneurs de sang au niveau du Centre de Transfusion Sanguine de la Wilaya de Tlemcen.

Notre travail s'articule sur trois parties :

- La première partie traite une étude descriptive de l'hépatite B (VHB) virus responsable de cette maladie
- La seconde partie évoque la présentation de l'étude
- la troisième partie, évoque la présentation des résultats et leur discussion.
- Enfin, ce manuscrit s'achève par une conclusion et des perspectives.

**REVUE DE LA
LITTÉRATURE**

II.Revue de la littérature

II.1.L'hépatite B :

II.2.Définition

Le virus de l'hépatite B humain (HBV) est un petit virus hépatotrope enveloppé responsable d'infections chroniques pouvant évoluer vers une cirrhose, voire un hépatocarcinome. Le génome de ce virus est un ADN contenu dans une capsid de symétrie icosaédrique et, bien qu'il ne s'agisse pas d'un rétrovirus, la réplication de son génome fait intervenir une étape de transcription inverse. Une des particularités de ce virus est la production in vivo, et en large excès par rapport à ce dernier, de particules sous-virales (PSV) d'enveloppe non infectieuses constituées uniquement de phospholipides membranaires ainsi que des trois protéines d'enveloppe virales (petite S, moyenne M et grande L). Ces PSV non infectieuses sont extrêmement immunogènes et leur production in vitro constitue à l'heure actuelle la base du vaccin contre l'hépatite. Bien que de nombreux travaux aient permis de mieux comprendre le cycle répliatif de ce virus, peu de données sont disponibles sur les étapes de morphogénèse des virions et des PSV associées. Des travaux récents suggèrent que les mécanismes et les sites d'assemblage de ces différentes particules pourraient être distincts.[3]

II.2.1.

II.2.1.A.

En 1964, Baruch Samuel BLUMBERG, médecin et biochimiste américain, travaillant pour le National Institute of Health, s'intéresse à la variabilité antigénique entre les individus et au sein des différentes populations. Il émet l'hypothèse selon laquelle des patients ayant reçu un grand nombre de transfusions sanguines doivent avoir développé des anticorps contre les antigènes qu'ils ne possèdent pas. Il met en présence des échantillons de sang de patients polytransfusés avec des sérums de personnes indemnes de toute transfusion. Il observe alors, en immuno-diffusion, une ligne de précipitation pour chaque système antigène-anticorps révélé. [4]

Ensuite, il remarque qu'un échantillon sanguin d'un patient hémophile polytransfusé présente la caractéristique de former une ligne de précipitation originale avec un seul sérum, celui d'un Aborigène australien. Ce sérum contient donc un antigène qui n'existe pas dans les autres lots ; BLUMBERG le baptise : « Antigène Australia ». Ses travaux consistent alors à établir la répartition de cet antigène dans diverses populations : un sérum sur 1000 est positif

en Amérique du Nord contre 15 sérums sur 100 dans certaines îles du Pacifique ; il existe donc une variabilité dans la distribution de cet antigène. Reste à trouver l'origine de ce portage antigénique.

En 1966, le changement de statut sérologique d'un patient initialement dépourvu d'antigène Australia renforce l'hypothèse d'une infection par un agent viral et ce patient a présenté une hépatite pendant la période de séroconversion. Ceci conduit à tester de nombreux échantillons de sang de patients aux antécédents d'hépatite. A la fin de l'année 1966, la preuve est faite que le portage de l'Antigène Australia est lié à une hépatite virale. BLUMBERG établit un protocole de dépistage du sang destiné aux transfusions, éliminant tous les lots porteurs de l'antigène; rapidement une nette diminution du nombre d'hépatite post-transfusionnelle est constatée.[5]

L'observation au microscope électronique du sérum contenant l'Antigène Australia révèle la présence de particules de 42 nanomètres de diamètre dont l'antigène Australia constitue une partie. La structure de ce virus aujourd'hui appelé VHB est vite élucidée. L'antigène Australia est aujourd'hui connu sous le nom d'antigène de surface du VHB (AgHBs).

En 1971, DANE découvre la particule qui porte son nom, d'un diamètre de 40 à 42 nm et qui correspond au virion. Il apparaît sous la forme de petite sphère ou de petit tube correspondant à des fragments de l'enveloppe du virus lui-même ;

· En 1972, MAGNIUS découvre l'antigène HBe soluble qui est le témoin de la multiplication virale

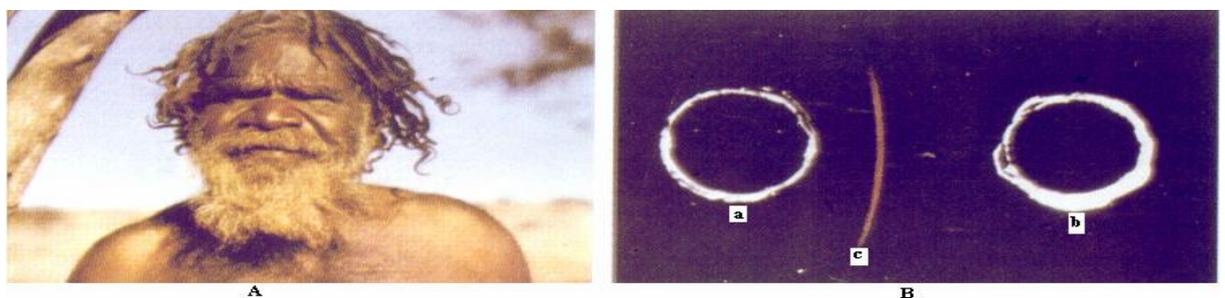


Figure 1: (A) Un Aborigène Australien ; (B) (a) l'antigène Australia ; (b) l'anticorps spécifique ; (c) l'arc de précipitation.

Puits a : antigène Australia ; puits b : anticorps spécifique. Après diffusion, la rencontre de l'Ag et de l'Ac dans la zone d'équivalence, entraîne la formation d'un arc de précipitation (c).[6]

II.2.1.B.

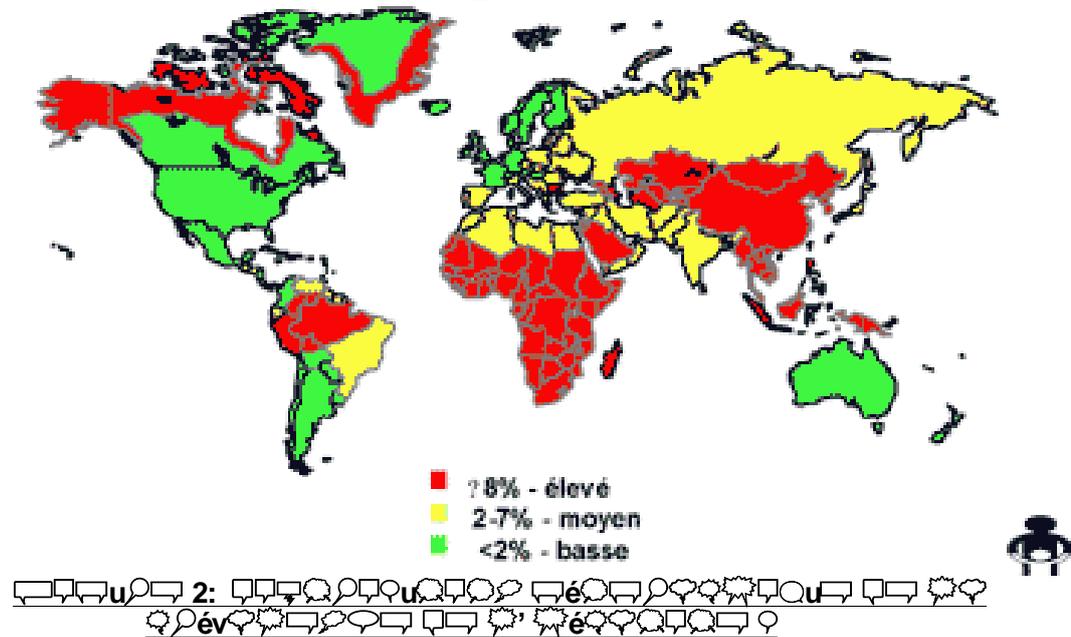
Le VHB est un virus à ADN enveloppé ubiquitaire mais sa répartition géographique n'est pas homogène

La physio-pathogénie de l'hépatite B est essentiellement immunomédiée. La réponse immunitaire, en particulier cellulaire induit la nécrose hépatocytaire par reconnaissance des antigènes viraux exprimés sur la membrane des hépatocytes. Ces mécanismes pathogéniques où l'interaction hôte-virus a un rôle central rendent compte de la diversité de présentations de cette hépatite [7], modifications de l'histoire naturelle (selon les zones de haute et faible endémies et l'âge à la contamination, risque de co-infection ou surinfection delta dans certaines populations épidémiologiquement déterminées), physiopathologiques (évolution différente selon le statut immunitaire, existence de porteurs inactifs) et virologiques (profil clinico-biologique modifié en cas de mutant, en particulier pré-C) de cette infection. Le VHB est largement répandu dans le monde

Selon les chiffres de l'OMS estime que 2 milliards de personnes dans le monde ont eu un contact avec le VHB et environ 360 millions ont développé une infection chronique. Celles-ci ont un risque accru de développer une cirrhose hépatique, puis un carcinome hépatocellulaire. Ce dernier constitue le cinquième cancer le plus fréquent dans le monde

Le virus de l'hépatite B est ubiquitaire, mais la prévalence de l'infection varie selon les Différentes régions du globe. Ainsi, considérant le portage de l'AgHBs, on distingue des zones de forte endémie, telles que l'Afrique sub-saharienne, l'Asie du Sud-est et le bassin amazonien, où 7 à 20% de la population sont des porteurs de l'AgHBs. Des zones de moyenne endémie qui sont l'Europe du Sud et de l'Est, le bassin méditerranéen, le Moyen-Orient, une partie de l'Amérique Centrale et de l'Amérique du Sud ont une prévalence de 2 à 5% de porteurs chroniques de l'AgHB ; et enfin des zones de faible endémie, telles que l'Amérique du Nord, l'Europe occidentale et du Nord, l'Australie et la Nouvelle Zélande où le taux de porteurs chroniques du VHB est inférieur à 2%. Dans ces régions, le pourcentage de porteurs chroniques peut cependant être plus élevé parmi les populations dites à risques, notamment les toxicomanes, les homosexuels, les sujets à partenaires multiples, les professionnels de la santé. (OMS 2015)

Répartition géographique de la prévalence de l'hépatite B



II.2.1.C. Les hépatites B

Le VHB appartient à la famille des Hepadnaviridae (contraction de "Hepatotropic DNA Viruses"), virus à ADN hépatotropes. Cette famille regroupe deux genres : Orthohepadnavirus et Avihepadnavirus, qui partagent des caractéristiques communes comme la morphologie, l'organisation génétique, le mode de répllication, et la spécificité d'hôte.

✓ Le genre Avihepadnavirus (virus infectant les aviaires) regroupe les virus du canard de Pekin (DuckHepatitis B virus: DHBV), du héron (HeronHepatitis B virus: HHVB), de l'acigogne (StorkHepatitis B Virus : STHBV) et de l'oie des neiges (Ross'sGooseHepatitis B virus). Ils diffèrent des virus des mammifères par l'absence du gène X .

✓ Le genre Orthohepadnavirus comprend le virus de l'hépatite B humain ainsi que les virus des rongeurs : le virus de la marmotte (WoodchuckHepatitis B virus : WHB), les virus des écureuils (GroundSquirrelHepatitis B virus : GSHBV et TreeSquirrelHepatitis B virus : TSHBV) et les virus des singes (ChHBV chez les chimpanzés, GoHBV chez le gorille, OuHBV chez l'orang-outang, GiHBV chez le gibbon et WMHBV chez le singe laineux).

Certaines souches simiennes étant très proches du virus de l'hépatite B humain, les virus d'arvicoles ne sont pas classés dans des espèces séparées.[8]

II.2.2. V

II.2.2.A.

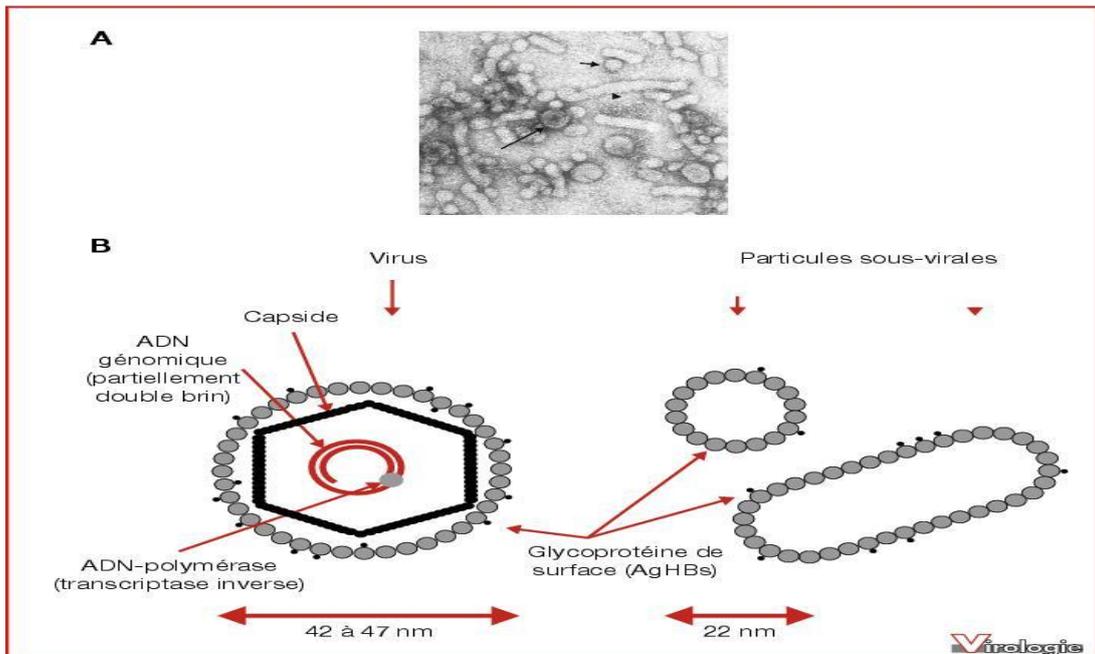
Dans les années 1970, l'observation par microscopie électronique de sérums de malades atteints d'hépatite virale B a révélé l'existence de 3 types de particules virales morphologiquement différentes correspondant à des particules virales complètes, connues sous le nom de particules de Dane et à des particules dites sous-virales, largement majoritaires, de forme sphérique ou filamenteuse.[9]

Les formes sphériques, plus abondantes, peuvent atteindre le nombre de 10¹³ copies/mL dans le sang d'un malade, alors que les virus complets n'y sont présents qu'au nombre 10⁴ à 10⁹ copies/mL. Les particules sous-virales sont des enveloppes lipoprotéiques vides constituées de lipides d'origine cellulaire et d'antigènes viraux correspondant aux trois glycoprotéines de surface S, Met L. Les particules sphériques sont principalement composées de protéines S avec quelques protéines M. La protéine L n'est présente que dans les virions et les particules sous-virales filamenteuses.[10]

Concernant l'organisation structurale des virions, leur capsid contenant une molécule d'ADN viral circulaire partiellement bicaténaire, est entourée par une enveloppe lipoprotéique dans laquelle deux (pour les Avihepadnavirus infectant les oiseaux) ou trois (pour les Orthohepadnavirus infectant les mammifères) protéines d'enveloppe sont insérées

En 2005, la structure tridimensionnelle des particules sous-virales sphériques a été déterminée par cryomicroscopie électronique permettant d'estimer à 48 le nombre total de protéines S par particule. L'analyse de leur densité aux électrons a montré qu'elles ne contenaient pas de région dont la densité était caractéristique d'une bicouche lipidique ces résultats, en accord avec un modèle proposé par Satoh et al. suggèrent que les lipides des particules sous-virales ne seraient pas organisés en une bicouche lipidique classique, mais seraient figés de façon inhabituelle à la surface des particules par leur contact très étroit avec les protéines.[11]

A l'heure actuelle, aucun rôle n'a été attribué à ces particules au cours du cycle viral.[12]



3: www.virologie.com

(www.virologie.com)

II.2.2.A.1. www.virologie.com

Les particules de Dane représentent le virus complet, infectieux. Elles mesurent 42 nm de diamètre et sont constituées d'une enveloppe lipoprotéique et d'une nucléocapside. L'enveloppe virale est une bicouche de lipides, provenant de la membrane des cellules de l'hôte, dans laquelle sont enchâssées des protéines de surface virales. Elle contient une nucléocapside icosaédrique de 27 nm de diamètre. La capsid protéique protège le génome viral, composé d'un brin (-) et d'un brin (+) d'ADN, et la polymérase virale ARN/ADN dépendante liée de façon covalente au brin (-) d'ADN. Sont également retrouvées dans la capsid des protéines kinases et protéines chaperonnes d'origine cellulaire ainsi que des oligoribonucléotides liés à l'extrémité 3' du brin (+) d'ADN.

L'enveloppe est constituée par des sous-unités protéiques codées par les gènes S, préS1 et préS2. La capsid est formée par l'union de plusieurs sous-unités HBc. Elle contient l'ADN du virus et les enzymes impliquées dans la réplication. [13]

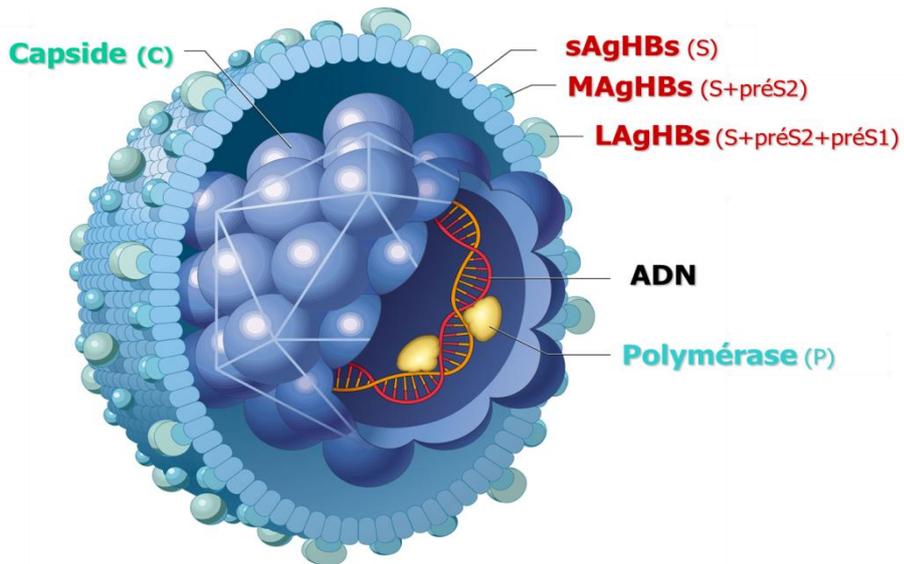


Figure 4: Schéma d'un virion de l'hépatite B (VHB). Le virion est composé d'une capside (c) externe et d'un génome d'ADN circulaire interne. Les protéines de surface sont les sAgHBs (S), les MAgHBs (S+préS2) et les LAgHBs (S+préS2+préS1). L'ADN est associé à la polymérase (P).

II.2.2.A.2. Le génome de l'ADN circulaire de l'hépatite B (VHB)

(Schéma illustrant la structure du génome d'ADN circulaire de l'hépatite B, montrant un brin de polarité négative et un brin de polarité positive.)

Le VHB est un virus à ADN circulaire, partiellement bicaténaire, d'environ 3 200 [nucléotides. L'ADN du virion est formé par un brin de polarité négative brin (-) codant de longueur constante et d'un brin court de polarité positive brin (+) 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 contenue dans la nucléocapside virale. Le maintien de la forme circulaire de l'ADN est assuré par l'appariement des extrémités 5' des deux chaînes dans une région d'une longueur de 200 nucléotides appelée région cohésive. Une protéine, la polymérase virale, et un oligoribonucléotide sont respectivement attachés aux extrémités 5' du brin (-) et du brin (+).

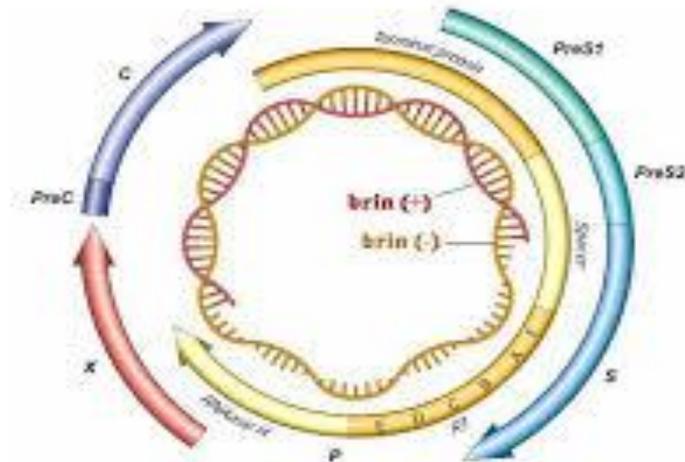


Figure 5: Carte génétique du VHB

(?)

La carte génétique du VHB a pu être établie en comparant les différentes séquences des génomes clonés. Seul le brin (-) est codant. Il contient quatre phases de lecture ouvertes correspondant aux régions codant pour les protéines virales. Les quatre régions codantes (C, P, S et X) se chevauchent du fait de l'organisation compacte du génome viral.

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 HBe circulant.[14] La région P recouvre 80 % du génome et code pour une protéine d'environ 90 k Da, l'ADN polymérase virale [15]. La région S code pour les protéines d'enveloppe [16]. 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 17 kDa dont le rôle n'est pas encore déterminé de façon précise mais qui, bien que non nécessaire à la réplication du génome viral proprement dite, serait indispensable pour établir l'infection virale *in vivo*. [17]

Des séquences directement répétées (DR1 et DR2) de 11 nucléotides sont situées de part et d'autre de la région cohésive. DR1 est localisée à l'extrémité 5' du brin (-) (ainsi que dans la séquence redondante en 3') et DR2 à l'extrémité 5' du brin (+). Ces séquences

jouent un rôle majeur dans l'initiation de la synthèse de chacun des deux brins d'ADN viral.

Un signal de polyadénylation TATAAA est présent à l'extrémité 5' de la région C et joue un rôle majeur dans la transcription des ARNm viraux. Deux régions activatrices (enhancer) possédant une spécificité hépatocytaire ont également été détectées dans le génome viral [18] : l'une en amont du gène X (enhancer I), l'autre en amont du promoteur C (enhancer II). Des facteurs nucléaires de transcription se liant à des sites spécifiques de ces régions activatrices ont été identifiés. Ces facteurs de transcription sont complexés à l'ARN polymérase II cellulaire. Ils se lient à l'ADN viral et permettent donc de cibler l'ARN polymérase II sur le promoteur viral et, ainsi, d'activer la transcription. Il a été montré *in vitro* que la protéine X et un certain type de protéines pré-S2/S tronquées seraient capables de transactiver une variété de promoteurs cellulaires et viraux dont l'enhancer I, le promoteur C et le promoteur pré-S2/S du VHB [19]. La protéine X ne se liant pas directement à l'ADN, il a donc été suggéré qu'elle pourrait agir en s'associant à et/ou en activant différents facteurs de transcription nucléaires. Cette activation par la protéine X de facteurs de transcription pourrait être sous la dépendance du système de transduction du signal par la protéine kinase C ou d'autres voies de transduction [20]. Plusieurs équipes ont suggéré que la protéine X pourrait aussi se lier au complexe du protéasome et modifier ainsi la dégradation de certains facteurs de transcription [21]



Figure 6 : Organisation du génome du virus de l'hépatite B (VHB) et transcription des ARN viraux.

On distingue quatre phases ouvertes de lecture (*Open Reading Frame* : ORF)

- 1) l'ORF S contient 3 codons d'initiation de transcription et code donc trois protéines de surface : le gène S code l'AgHBs ou protéine majeure S (small protein : S), le gène préS2/S code la protéine moyenne préS2 (medium protein : M) et le gène préS1/préS2/S code la grande protéine préS1 (large protein : L).
- 2) l'ORF C code les protéines de core ou protéines de capsid. Un premier codon d'initiation permet la synthèse d'une séquence signal (à partir du gène préC) nécessaire à la translocation de la protéine HBc dans le reticulum endoblastique (RE) et à sa sécrétion dans le plasma. En l'absence de cette séquence signal (la transcription débute au second codon d'initiation), la protéine HBc est synthétisée. Elle n'est pas excrétée dans le plasma et s'assemble pour former la capsid virale.
- 3) la plus longue phase ouverte de lecture, l'ORF P, code la polymérase virale. Elle couvre 80 % du génome et chevauche donc partiellement ou totalement toutes les autres phases ouverte de lecture.
- 4) la plus petite ORF code une protéine trans-activatrice X.

II.2.3. u V

II.2.3.A.1. v

Les protéines d'enveloppe, également connues sous le nom d'antigènes de surface (AgHBs), sont codées par un seul cadre de lecture possédant trois codons d'initiation de la traduction et un seul codon stop. Ainsi, les séquences peptidiques de la petite protéine d'enveloppe (S, 226 acides aminés et 24 kDa), de la protéine moyenne (M, 281 acides aminés et 30kDa) et de la grande protéine (L, 389 acides aminés et 39 kDa pour le génotype D) sont identiques dans leur portion C-terminale. La région commune aux trois protéines est appelée domaine S, celle commune aux protéines M et L correspond au domaine Pre-S2 (55 acides aminés) et celle spécifique à la grande protéine est la région Pre-S1 (108 acides aminés pour le génotype D fortement représenté en Europe). Lors de leur traduction, les protéines d'enveloppe sont insérées dans la membrane du réticulum endoplasmique (RE) grâce à deux signaux topogéniques (I et II), présents dans leur domaine S, qui déterminent l'orientation des protéines dans la membrane.

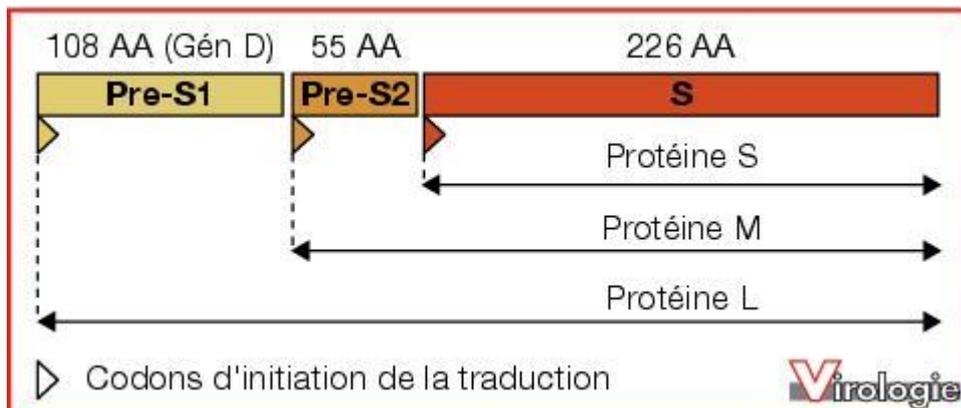


Figure 7: Schéma de la structure de la protéine S du virus de l'hépatite B (VHB). La protéine S est composée de trois domaines : Pre-S1 (108 AA), Pre-S2 (55 AA) et S (226 AA). Les protéines M et L sont également représentées.

(La protéine S est une protéine transmembranaire qui joue un rôle crucial dans le cycle de vie du VHB. Elle est composée de trois domaines : Pre-S1 (108 AA), Pre-S2 (55 AA) et S (226 AA). Les protéines M et L sont également représentées. La protéine S est responsable de la formation des virions et de l'attachement du virus aux cellules cibles. Les domaines Pre-S1 et Pre-S2 sont impliqués dans l'attachement du virus aux cellules, tandis que le domaine S est responsable de la formation de la capside virale. Les protéines M et L sont des protéines de surface qui jouent un rôle dans la formation des virions. Le schéma ci-dessus illustre la structure de la protéine S et la position des protéines M et L. Les triangles indiquent les codons d'initiation de la traduction.)

Le modèle actuel représentant la topologie transmembranaire de la protéine S consiste en l'exposition liminale de ses extrémités N- et C-terminales (i.e. à l'extérieur des virions).[20]

De plus, les logiciels de prédiction de structure secondaire prédisent l'existence de quatre hélices transmembranaires dans le domaine S, les signaux I et II correspondant aux deux premiers domaines, appelés TM1 et TM2, et la région C-terminale (AA169-AA226 de la protéine S) abritant les deux autres domaines, TM3 et TM4, dont la fonction d'ancrage n'a pas été démontrée expérimentalement. Ces quatre domaines transmembranaires délimitent deux boucles cytoplasmiques (CYL-I et II) et une boucle antigénique (AGL) dont les positions respectives sont indiquées dans la figure 2. La seconde boucle hydrophile, située dans la lumière du RE entre les domaines TM2 et TM3, porte le principal déterminant antigénique (a) des antigènes de surface qui se retrouve à la surface des virions après le bourgeonnement des particules virales. La formation et le maintien de la structure de ce

cryomicroscopie électronique permettant d'estimer à 48 le nombre total de protéines S par particule. L'analyse de leur densité aux électrons a montré qu'elles ne contenaient pas de région dont la densité était caractéristique d'une bicouche lipidique.[19]

Les trois protéines d'enveloppe (AgHBs) sont représentées : S pour la petite protéine, M pour la protéine moyenne, et L pour la grande protéine. Selon des études de cryo-microscopie électronique, le diamètre des particules sous-virales sphériques est de 20-23 nm, et celui des virions est de 45 nm. A l'intérieur de l'enveloppe des virions, on retrouve une nucléocapside (≈ 30 nm), constituée de protéines de capsid (AgHBc), qui protège une molécule d'ADN viral circulaire partiellement double brin associée à la polymérase virale

II.3.Le cycle de réplication virale

Le cycle de réplication de l'ADN viral comporte plusieurs phases.

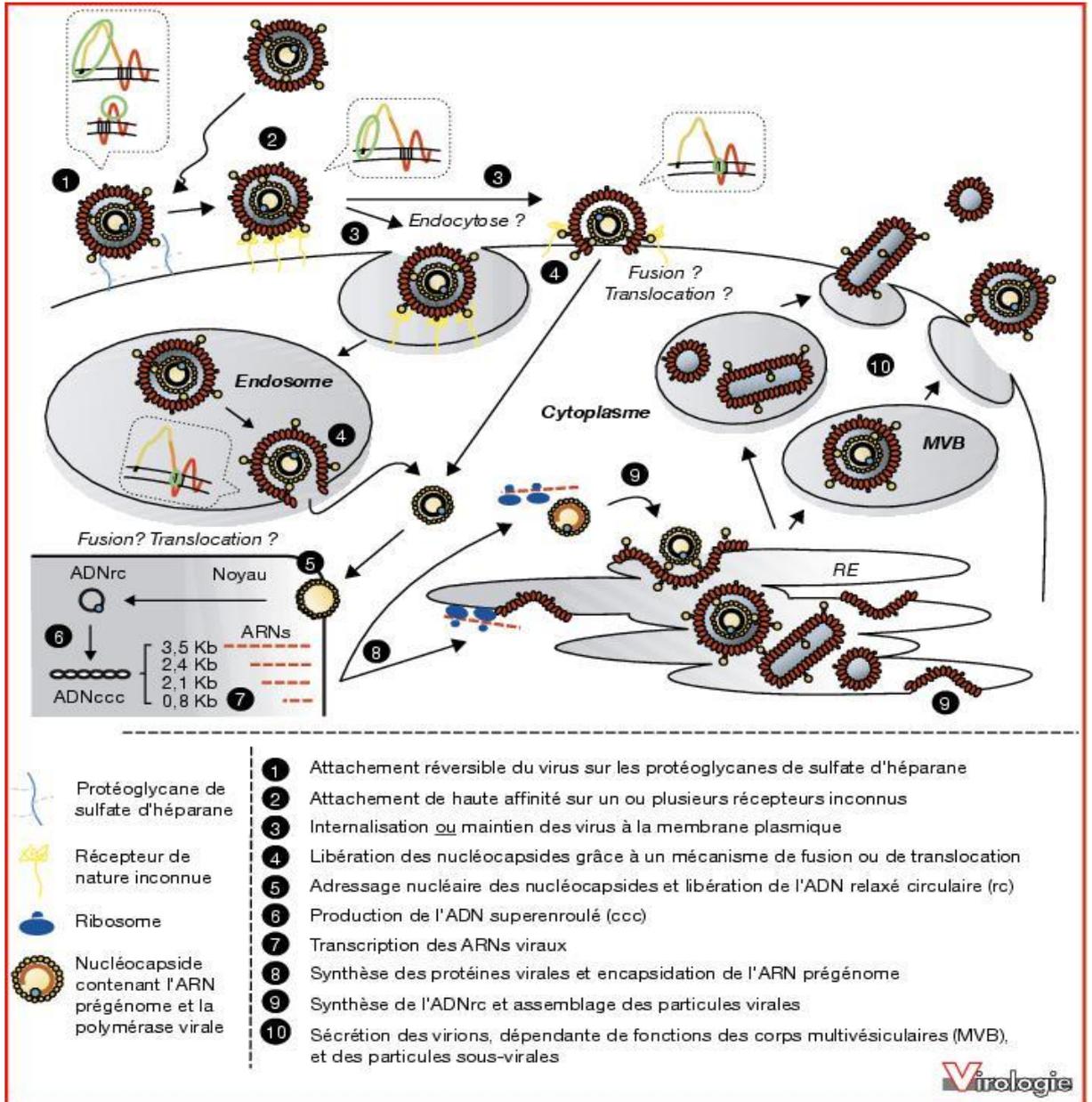
* La première étape est celle de la production de la forme super-enroulée de l'ADN viral (*supercoiled DNA*). Après pénétration du virus dans la cellule, l'ADN viral contenu dans le virion, qui est partiellement double-brin, est transformé en ADN entièrement double-brin super-enroulé qui est retrouvé dans les noyaux des cellules infectées. Il s'agit d'une étape complexe qui pourrait faire intervenir des enzymes cellulaires ou l'ADN polymérase virale. Cette forme super-enroulée a un rôle primordial dans le cycle viral car elle est la matrice nécessaire à la transcription des ARN messagers viraux, dont l'ARN pré-génomique. Cette forme d'ADN viral super-enroulé est maintenue dans la cellule par un recyclage intracellulaire de l'ADN viral dans le noyau. La persistance de l'ADN super-enroulé dans la cellule infectée joue un rôle majeur dans le maintien de la chronicité des infections à *Hepadnaviridae*. [22]

✓ La deuxième étape est celle de la synthèse et de l'encapsidation de l'ARN pré-génomique. L'ARN pré-génomique est synthétisé à partir du brin (-) de l'ADN super-enroulé. Plus long que le génome viral, il contient l'ensemble de l'information génétique virale. En particulier, il contient des séquences primordiales pour la synthèse correcte du brin (-) et du brin (+) de l'ADN viral. Un signal d'encapsidation, appelé epsilon et qui a une structure secondaire en épingle à cheveux, est présent à l'extrémité 5' de l'ARN pré-génomique et permet au processus d'encapsidation d'être spécifique, c'est-à-dire de pouvoir faire la différence entre les ARN messagers viraux et cellulaires. Les protéines virales nécessaires à l'encapsidation sont les protéines de capsid et la polymérase virale. [23]

- ✓ La troisième étape est celle de la synthèse du brin (-) de l'ADN viral. Au moment où l'ARN prégénomique est encapsidé, la transcription inverse est initiée par un mécanisme génétique et biochimique unique dans le monde des virus. En effet, contrairement aux rétrovirus qui utilisent un ARN de transfert comme amorce de la transcription inverse, les *Hepadnaviridae* utilisent le groupe hydroxyle d'un résidu tyrosine de la transcriptase inverse virale pour amorcer la transcription inverse. La transcriptase inverse va interagir avec le signal d'encapsidation epsilon à l'extrémité 5' de l'ARN prégénomique et incorporer les quatre premiers nucléotides (GTAA) de façon complémentaire à la séquence de l'ADN viral. Par la suite, le complexe formé par la polymérase virale et les quatre premiers nucléotides est transféré à l'extrémité 3' de l'ARN prégénomique et l'élongation de la synthèse du brin (-) peut alors continuer.[24]

De façon concomitante à la synthèse du brin (-) de l'ADN viral, une activité RNase H va dégrader la matrice d'ARN prégénomique qui a donné naissance au brin (-) de l'ADN viral.

- ✓ La quatrième étape est celle de la synthèse du brin (+) de l'ADN viral. Après terminaison de la synthèse du brin (-), la synthèse du brin (+) de l'ADN viral est initiée par une amorce ARN. La circularisation du génome résulte d'un phénomène de translocation de l'amorce ARN. La synthèse du brin (+) est le plus souvent incomplète et les capsides virales sont enveloppées et sécrétées sous forme de virion contenant un ADN circulaire partiellement bicaténaire.



9: y e u v u

Les différentes étapes du cycle sont numérotées et explicitées dans le bas de la figure. À l'intérieur des boîtes en pointillé, les régions des protéines d'enveloppe possiblement impliquées dans l'étape du cycle viral ciblée, sont entourées en vert.

II.3.1.

L'organisation structurale et fonctionnelle du gène P codant pour la polymérase virale a été définie par l'analyse mutationnelle du gène P et la présence d'homologies de séquence avec les autres transcriptases inverses. Ces études ont permis la définition de domaines structuraux et fonctionnels de la polymérase des *Hepadnaviridae*. Ces connaissances ont été notamment à l'origine de l'évaluation des antirétroviraux en tant qu'agents inhibiteurs de la réplication du VHB.

À l'extrémité N-terminale de la polymérase virale, on trouve une tyrosine conservée qui fournit l'amorce pour l'initiation de la synthèse de l'ADN viral. Après ce domaine, on trouve une région appelée *spacer* dont la séquence est hyper-variable et qui tolère une variété de mutations sans altérer la fonction de la polymérase virale. Ce domaine est suivi par le domaine ayant l'activité transcriptase inverse proprement dite qui comprend une séquence d'acides aminés très conservés (tyrosine-méthionine-asparagine-asparagine : YMDD) dont la mutation inactive la polymérase virale de façon très comparable à ce qui est observé avec la transcriptase inverse du VIH. Cette séquence fait probablement partie du site catalytique du domaine transcriptase inverse. À l'extrémité C-terminale, on trouve ensuite le domaine RNase H dont l'activité fonctionnelle permet la dégradation de la matrice ARN lors de la synthèse du brin (') de l'ADN viral de façon comparable à la RNase H de la transcriptase inverse du VIH.

La caractérisation biochimique et génétique des différentes étapes du cycle viral et de la transcriptase inverse virale permet l'identification des cibles virales potentiellement accessibles à des agents inhibiteurs. La très forte analogie avec les rétrovirus a donc permis l'évaluation d'un grand nombre d'agents antirétroviraux pour l'inhibition de la réplication du virus de l'hépatite B. Cela fournit les bases fondamentales pour tester notamment l'efficacité d'analogues de nucléosides dont l'activité sur la transcriptase inverse du VIH est connue et démontrée.

II.3.2.

La transcription des ARN viraux messagers et de l'ARN pré-génomique est réalisée par l'ARN polymérase II cellulaire à partir de l'ADNccc. Tous les transcrits VHB sont coiffés en

5' et polyadénylés en 3' à une position commune. La polyadénylation est dirigée par un signal unique non-canonique situé dans l'ORF préC/C. La transcription des gènes VHB est contrôlée par 4 promoteurs viraux et deux régions « enhancers ». Il a été observé que cette étape de transcription était régulée aussi par des phénomènes épigénétiques tels que le statut d'acétylation des histones H3 et H4 liés à l'ADNccc et par le recrutement des acétyltransférases cellulaires (p300 et CBP), et des désacétylases cellulaires (HDACI).

Le promoteur C localisé dans l'ORF X dirige la synthèse des ARNm pré-C et pré-génomique (pg) de 3,5 kb. La polyadénylation des ARNm préC et ARNpg n'a lieu qu'au deuxième passage de la polymérase cellulaire au niveau du signal de polyadénylation conséquent, l'ARNpg contient l'ensemble de l'information génétique virale, ainsi qu'une région redondante terminale de 120 nt contenant une deuxième copie de la séquence DR1 (Direct repeat 1), le signal d'encapsidation ϵ en épingle à cheveux, et la queue polyA. L'ARNpg est encapsidé avec la polymérase virale, des kinases cellulaires et des protéines chaperonnet (hsp90, hsp60 et p23) pour permettre le repliement correct de la polymérase virale et son interaction avec les protéines de capsid. Le promoteur S1 dirige la synthèse de l'ARNm préS1 de 2,4 kb qui code la protéine d'enveloppe L-AgHBs. Les transcrits sous génomiques de 0,7 kb sont sous le contrôle du promoteur X et permettent la synthèse de la protéine X.

II.3.3.

Tous les transcrits VHB coiffés et polyadénylés recrutent les facteurs eucaryotes d'initiation de la traduction (eIF) indispensables à la liaison des ribosomes aux extrémités 5' des ARNm VHB. La traduction active de la protéine préC à partir d'un AUG en amont du signal d'encapsidation ϵ de la région 5' de l'ARNm préC empêche l'interaction de la polymérase et ϵ et par conséquent l'encapsidation de l'ARNm préC. Les ARNm sont traduits dans le cytoplasme au niveau du RE en différents produits viraux capables de s'assembler en de nouvelles particules virales. Une partie de l'encapsidation se ferait par réassemblage des dimères d'AgHBc obtenus après la dissolution à l'entrée du noyau. Au sein de la capsid, la polymérase possède différentes activités enzymatiques pour convertir l'ARNpg en ADN RC (Rabe *et al.*, 2009). d'ARN homologue à celle de la région ϵ . Ce transfert est régulé par plusieurs éléments en cis de l'ARNpg.

A partir de ce moment, la synthèse du brin (-) débute, et l'ARNpg est simultanément dégradé par l'activité RNase H de la polymérase virale à l'exception de 15 à 18 nucléotides de l'extrémité 5' protégée par la coiffe. Cet oligonucléotide d'ARN coiffé, contenant les 11 nucléotides de la séquence DR1 de la région 5' va être transloqué au niveau de la région DR2 du brin (-) et va servir d'amorce pour la synthèse du brin (+). La forte homologie de séquence existant entre DR1 et DR2 permet l'appariement de l'oligonucléotide sur la séquence DR2 située en 5' du brin (-) (Beck et Nassal, 2007; Nassal, 2008).

II.3.4.

L'infectiosité du VHB s'explique par sa présence et sa concentration élevée dans la plupart des liquides biologiques des personnes infectées : 108 à 109 virions par millilitre dans le sang, 106 à 107/ml dans le sperme et les sécrétions vaginales, 105 à 107/ml dans la salive. Il existe quatre principaux modes de transmission :

II.3.5.

Le risque de contamination par voie sexuelle peut varier de 30 à 80%. Il augmente avec le nombre de partenaires sexuels, les années d'activité sexuelle, les autres infections sexuellement transmissibles (IST), et le type de rapports notamment les rapports anaux réceptifs. Ce mode de contamination est surtout observé en zone de faible endémie où la contamination survient principalement à l'âge adulte.

II.3.6.

Ce mode de transmission peut toucher le personnel soignant, lors d'accidents d'exposition au sang, et les usagés des drogues injectables. Les « piercings » et les tatouages pratiqués sans respect des règles de stérilisation du matériel utilisé, peuvent constituer un mode de transmission d'individu à individu.

II.3.6.A.

La transmission du VHB entre enfants est très fréquente et principalement décrite en Afrique noire. La dissémination intrafamiliale du virus est le plus souvent aggravée par les mauvaises conditions d'hygiène et la promiscuité importante. Dans les régions d'endémie intermédiaire, la transmission est surtout horizontale (le grand enfant, l'adolescent et l'adulte jeune). Elle résulte le plus souvent du contact de lésions cutanées ou muqueuses avec du sang contaminé, ou le partage d'objets souillés

II.3.6.B.

La transmission périnatale de mère atteinte d'une infection chronique à son nouveau-né se produit au moment de la naissance. Le risque est plus élevé chez les enfants nés de mère ayant un AgHBe positif : l'incidence de l'infection est de 90% alors qu'elle est de 10 à 20 % pour les enfants nés de mère AgHBe négatif. La prévalence de l'AgHBe chez les mères porteuses d'AgHBs est plus importante en Asie (40%) qu'en Afrique (15%).

II.4. Histoire naturelle de l'infection par VHB

Lorsqu'un sujet entre en contact avec le virus de l'hépatite B, il est soumis à un double risque, celui de survenue d'une hépatite fulminante et celui d'évolution vers la chronicité

II.4.1.

L'infection par le VHB est à l'origine d'atteintes hépatiques aiguës ou chroniques qui peuvent évoluer vers la cirrhose et le CHC. Le virus n'est pas directement cytopathogène, c'est la réponse immune qui induit les lésions hépatiques chez les patients. Au cours de l'infection par le VHB, les lymphocytes T cytotoxiques (CTL) induisent l'apoptose des hépatocytes infectés et activent en parallèle une série de réactions inflammatoires dues à la production du facteur de nécrose tumoral (TNF), des radicaux libres, ou des protéases. Ces réactions exacerbent la mort hépatocellulaire et aboutissent à l'apparition de foyers d'inflammation nécrotiques dans le foie. Les lésions hépatiques s'accompagnent d'une régénération active des hépatocytes. Ces deux processus multiplient par 100 le risque de cancer du foie chez les patients infectés.[25]

II.4.2. Diagnostic de l'hépatite aiguë

Le diagnostic d'une hépatite aiguë est fondé sur la présence dans le sang de l'AgHBs et des Ac anti-HBc de type IgM dans un contexte cytolytique hépatique. L'AgHBs est le premier marqueur détecté dans le sérum, il apparaît pendant la période d'incubation, en moyenne de deux semaines à trois mois après le contage. Cette phase d'incubation correspond à la fenêtre immunologique silencieuse dont la durée est estimée à 56 jours et pendant laquelle le VHB est indétectable par les tests sérologiques classiques. Les Ac anti-HBc totaux apparaissent 2 à 4 semaines après l'AgHBs, pendant la phase aiguë de la maladie. L'AgHBe apparaît peu de temps après l'AgHBs puis disparaît rapidement (sa persistance au-delà de 3 semaines serait un indicateur de passage à la chronicité). Lors de la phase aiguë de l'hépatite, environ 10¹³ virions sont produits par jour et la charge virale peut atteindre 10¹⁰ copies de génome/ml de sérum. La recherche de ces deux marqueurs de multiplication virale n'est pas utile au cours de l'hépatite aiguë.

II.4.3. Évolution de l'hépatite aiguë

L'incubation est longue, de 6 semaines à 4 mois. L'infection par le VHB peut entraîner une hépatite aiguë plus ou moins sévère, voire fulminante, une hépatite chronique qui peut être active avec un risque d'évoluer vers une cirrhose et un carcinome hépatocellulaire (Carcinome hépatocellulaire).

La proportion de cas symptomatiques de l'hépatite aiguë B augmente avec l'âge alors que le risque de passage à une infection chronique diminue. En effet, lorsqu'elle a lieu à la naissance ou durant la petite enfance, l'infection par le VHB entraîne en règle générale une hépatite aiguë asymptomatique mais est associée à un risque élevé (de 90 % à la naissance à 30 % à 4 ans) d'évolution vers une infection chronique.

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

II.4.4. Hépatite B aiguë

La gravité immédiate de l'hépatite B aiguë est liée au risque d'hépatite fulminante qui est de l'ordre de 1% des formes symptomatiques (Pol 2006). Elle est définie par l'apparition d'une encéphalopathie hépatique associée à une diminution du facteur V, le patient sombre dans le coma, présente des hémorragies cutanées et des muqueuses, et une forte hypoglycémie. Sans une transplantation hépatique rapide, quatre malades sur cinq décèdent en quelques jours, voire en quelques heures. Pour ceux qui en guérissent, il n'y a en général aucune séquelle.

II.4.5. Hépatite B chronique

L'infection chronique par le VHB est en règle générale asymptomatique (jusqu'au stade de cirrhose décompensée) ; cela explique que la plupart des porteurs chroniques du VHB ne sont pas diagnostiqués et donc non pris en charge ni traités. Ainsi, la maladie évolue le plus souvent silencieusement et est découverte tardivement soit de manière fortuite soit au stade de cirrhose à l'occasion d'une première complication.

L'infection chronique est définie par un antigène HBs positif persistant plus de 6 mois.

Parmi les porteurs chroniques du VHB, on distingue deux situations : les patients porteurs inactifs de l'Ag HBs (autrefois désignés par les termes « porteurs sains » ou « porteurs asymptomatiques ») et les patients atteints d'une hépatite chronique. On distingue ces deux situations grâce à deux tests simples : le dosage des transaminases (qui reflète l'existence de lésions inflammatoires du foie, ou hépatite) et la mesure de la charge virale par la quantité d'ADN du VHB présente dans le sérum (qui reflète le degré de répllication virale).

Dans le cas d'un portage chronique inactif, les transaminases sont normales et l'ADN VHB présent en faible quantité (moins de 100 000 copies par ml). Dans l'hépatite chronique B, les transaminases sont élevées en permanence et l'ADN VHB est présent en grande quantité (X copies par ml). Cette distinction est essentielle car le pronostic est bon dans le premier cas avec un risque faible de développement de lésions du foie, et en particulier de survenue d'une cirrhose ou d'un CHC ; il n'y a pas d'indication à un traitement. Inversement, dans le deuxième cas, il existe un risque élevé de développement de lésions évolutives du foie avec un risque de cirrhose puis de complications et de CHC, le traitement peut être indiqué en fonction du stade de l'hépatite chronique.

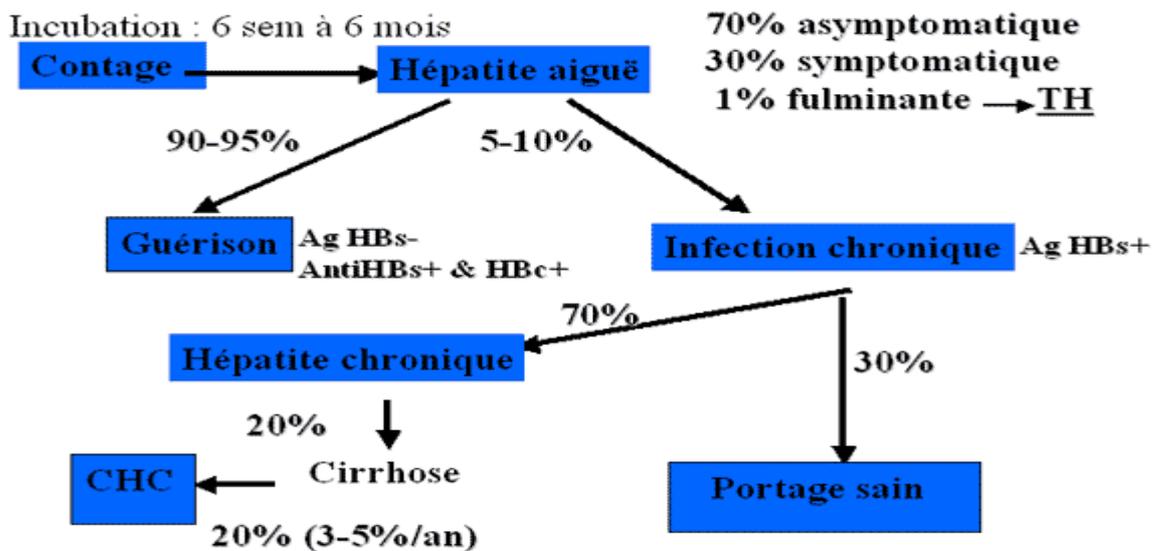
II.4.6. Les mécanismes de l'hépatocarcinogénèse induite par le VHB

Les mécanismes de l'hépatocarcinogénèse induite par le VHB sont inconnus.

L'hypothèse la plus probable implique la protéine X, qui est capable de translater des gènes cellulaires associés à la prolifération et/ou la différenciation cellulaire. Les protéines d'enveloppe semblent aussi jouer un rôle dans le développement de CHC. En effet, il semble que l'accumulation intracellulaire de protéine L, voire de protéine M, soit associée au développement de cancer. L'hépatocarcinogénèse pourrait également être induite par l'intégration de l'ADN viral dans le génome cellulaire. Cette intégration survenant de façon aléatoire, elle peut interférer avec l'expression d'oncogènes ou de gènes impliqués dans la division cellulaire. Toutefois, cet événement est rare et constituerait donc une étiologie mineure des CHC viro-induits. Par ailleurs, la régénération continue et forcée des hépatocytes

Détruits par le système immunitaire pourrait favoriser l'émergence de mutations cellulaires, et par conséquent, de CHC.[26]

Histoire naturelle de l'infection virale B



10 : v

II.5. Diagnostic virologique de l'hépatite virale B

Les outils virologiques utiles pour le diagnostic, le suivi et la prise en charge thérapeutique des hépatites virales liées au virus de l'hépatite B (VHB) sont à la fois sérologiques et moléculaires. A côté des tests classiques de détection des antigènes viraux et des anticorps dirigés contre eux, de nouvelles techniques de biologie moléculaire permettent aujourd'hui une quantification plus sensible et plus précise de l'ADN virale. De nouveaux marqueurs, comme le génotype du VHB ou le profil des substitutions amino-acidiques associées à la résistance du VHB aux analogues nucléos(t)idiques, pourraient également trouver une indication en pratique clinique.

II.5.1. Les méthodes de type ELISA

Les méthodes de type ELISA (*Enzyme-Linked Immuno sorbent Assay*) sont utilisées pour détecter et, parfois, quantifier les antigènes viraux ou les anticorps spécifiques dans les liquides biologiques. Le résultat est exprimé par un ratio, par rapport à un témoin.

Les techniques ELISA sont faciles à utiliser, automatisables et permettent de tester un grand nombre d'échantillons. Elles sont, en outre, relativement peu coûteuses. En pratique, les tests ELISA sont utilisés pour la détection de l'antigène et de l'antigène HBe (tests directs), et pour celle des anticorps anti-HBs, des anticorps anti-HBc totaux et de type IgM, et des anticorps anti-HBe (tests indirects). [20]

II.5.2. L'antigène HBs

L'antigène HBs (AgHBs) exprimé à la surface de la particule virale, l'AgHBs est la structure d'attachement du virus sur la cellule cible. Cet antigène constitue l'essentiel de l'enveloppe du virus. Contrairement à la plupart des virus enveloppés, l'enveloppe du VHB ne dérive pas du bourgeonnement des membranes nucléaires ou cytoplasmiques, mais est plutôt constituée au niveau de la membrane cytoplasmique de l'hépatocyte, associant à l'antigène HBs des molécules de glycoprotéines et de lipides cellulaires. Cette structure particulière de son enveloppe confère une résistance au VHB, à l'instar des virus « nus ». En effet, contrairement aux « virus à enveloppe classique », le VHB résiste à l'éther et à la dessiccation (des sérums laissés 6 mois à 30-32°C restent infectieux). Il faut pour l'inactiver dans le sérum, une concentration d'hypochlorite de soude de 5 % (eau de Javel pure), alors que d'habitude la plupart des virus sont détruits par l'hypochlorite de soude à 0,5 %.

L'AgHBs est le marqueur viral le plus recherché dans le sérodiagnostic de l'hépatite B. C'est également le premier marqueur qui apparaît au cours de l'infection et est détectable six mois dans le sérum par la plupart des techniques immuno enzymatiques, avant d'être éliminé par le sujet infecté. Cependant, des mutations affectant l'AgHBs peuvent le rendre indétectable par les tests sérologiques. La présence de l'AgHBs au-delà de six mois traduit une hépatite B chronique.

□ **L'antigène HBc (AgHBc)** Il constitue le cor (ou la capsid) et est exprimé à la surface des hépatocytes où il induit des réactions de cytolysse de la part des lymphocytes T CD8+. Il n'est pas détectable dans le sérum mais peut être mis en évidence dans le noyau des cellules hépatiques.[26]

□ **L'antigène HBe (AgHBe)**

Il est comme l'AgHBc, codé par le gène C, mais diffère de celui-ci par l'absence de 34 à 36 acides aminés à son extrémité carboxyle-terminale et par la présence de 10 acides aminés dans sa région pré-C. Sa présence dans le sérum traduit une répllication active du VHB. Ce marqueur est important dans le suivi de l'hépatite B chronique.

□ **L'ADN du VHB**

Dans le suivi des patients chroniquement infectés, la charge virale est un outil standard dans l'évaluation de la réponse au traitement. L'ADN du VHB est quantifiable dans le plasma par les techniques de polymérisation en chaînes comme la PCR en temps réel ou par les techniques d'hybridation. Toutefois, quel que soit la technique utilisée, l'expression des résultats en unités internationales par millilitre (UI/mL) est indispensable afin de standardiser de comparer les résultats des examens réalisés dans les différents laboratoires. De plus, dans le cas des hépatites occultes où l'AgHBs muté n'est pas détectable par la plupart des anticorps monoclonaux, la recherche qualitative de l'ADN est importante.

La recherche du génotype viral par les techniques de biologie moléculaire est aussi un facteur important dans le suivi des infections chroniques.

II.5.3.

Les anticorps anti-HBs (AcHBs) Ils apparaissent après la disparition de l'AgHBs. Leur présence dans le sérum traduit une élimination du virus par l'hôte infecté ou, une immunisation par la vaccination.

Les anticorps anti-HBe (AcHBe)

Leur apparition dans le sérum traduit une régression, ou un arrêt de la réplication. La séroconversion de l'AgHBe est aussi un bon pronostic dans le traitement des patients avec une hépatite chronique B active, le but de celui-ci étant de parvenir à une charge virale indétectable.

-Les anticorps anti-HBc (AcHBc) L'AcHBc est avec l'AgHBs, le marqueur le plus couramment utilisé dans le dépistage de l'hépatite B, notamment en transfusion sanguine. L'AcHBc peut persister dans le sérum quelques temps après la disparition de l'AgHBs.

Le stade de l'infection par le VHB dépend de l'interprétation du profil des marqueurs Sérologiques.

II.5.4. La quantification de l'ADN du VHB dans le sang périphérique

La quantification de l'ADN du VHB dans le sang périphérique permet de mesurer le niveau de la réplication virale. On individualise deux catégories de techniques qui permettent de détecter et de quantifier l'ADN du VHB : les techniques d'amplification de l'ADN, essentiellement la *polymerase chain reaction* (PCR), et les techniques d'amplification du signal, fondées sur l'utilisation de la capture d'hybrides ou sur celle des ADN branches. Le principe de la PCR consiste à synthétiser un grand nombre de copies du génome viral au cours de réactions enzymatiques cycliques dont le nombre est variable (25 à 40 cycles) et qui utilisent plusieurs températures et une enzyme thermostable, la Taq polymérase. Les copies du génome viral sont des ADN double brins qui peuvent être détectés et quantifiés par différentes méthodes. Dans les techniques de PCR classiques,

“Compétitives”, la quantification est fondée sur l'amplification compétitive d'une séquence témoin ajoutée à chaque échantillon en quantité connue. Les quantités relatives de produits amplifiés à partir de l'ADN du VHB et à partir du témoin sont mesurées à la fin de la réaction et les résultats sont établis à l'aide d'une courbe d'étalonnage établie en parallèle au cours de la réaction. Roche Molecular Systems (Pleasanton, Californie) commercialise la technique Amplicor HBV MonitorR, manuelle, et la technique Cobas Amplicor HBV MonitorR, semi-automatisée grâce à l'utilisation de l'automate Cobas AmplicorR

Le principe des techniques d'amplification du signal est la capture des génomes viraux sur un support solide et l'hybridation de l'acide nucléique viral à plusieurs sondes liées à des molécules “signal”, afin d'augmenter le signal d'amplification, c'est-à-dire la sensibilité analytique de la technique. L'émission du signal en fin de réaction est directement

proportionnelle à la quantité de génomes présents dans l'échantillon et comparée à une courbe d'étalonnage générée simultanément à partir de témoins ADN en quantités connues. La technique HPV Digene Hybrid Capture II™ et sa version Ultra sensitive HPV Digene Hybrid Capture II™ (Digene Corporation, Gaithersburg, Maryland) sont fondées sur le principe de la capture d'hybrides en milieu liquide

Les techniques classiques de détection et quantification de l'ADN du VHB sont actuellement progressivement remplacées dans les laboratoires de virologie par les techniques de PCR "en temps réel", dont le principe est de détecter la synthèse des produits d'amplification au cours de la réaction de PCR, à l'intérieur du tube ferme, plutôt qu'à la fin de celle-ci comme c'est le cas au cours des techniques classiques de PCR. La PCR en temps réel est beaucoup plus sensible et plus rapide que les techniques classiques d'amplification et elle diminue considérablement le risque de contamination. Ses performances sont en cours d'optimisation et l'automatisation de la technique ainsi que son applicabilité à une large échelle en feront la technique de choix dans le futur proche pour la quantification de l'ADN du VHB. Deux techniques de PCR en temps réel sont d'ores et déjà disponibles pour la détection et la quantification de l'ADN du VHB : Cobas Taqman R HBV et la version de ce test disposant d'une extraction automatique de l'ADN du VHB, Cobas AmpliPrep R-Cobas Taqman R HBV, ou CAP-CTMR HBV (Roche Molecular Systems) et Real-Art R HBV PCR Assay (Artus-Biotech, Qiagen, Hambourg, Allemagne). Un nouveau kit commercialisé par Abbott Diagnostic sera bientôt disponible. [27]

II.6. Traitement de l'hépatite B

La plupart des adultes immunocompétents et infectés par le VHB n'ont en général pas besoin de traitement car, éliminant spontanément le virus après six mois. Toutefois, des traitements sont disponibles pour les individus chroniquement infectés et ceux à risque de développer une hépatite fulminante. Ces traitements n'éliminent pas le virus mais, ont pour but d'inhiber sa multiplication en ralentissant ainsi la progression de la maladie. Deux types de molécules sont proposés : des analogues d'antiviraux nucléosidiques et nucléotidiques qui peuvent directement inhiber la réplication de l'ADN viral et l'interféron α capable de moduler aussi bien la réponse immunitaire que la multiplication virale.

II.7.Prévention

Le vaccin contre l'hépatite B est la clé de voute de la prévention de cette maladie. L'OMS recommande d'administrer ce vaccin à tous les nourrissons dès que possible après leur naissance, et de préférence dans les 24 heures qui suivent.

La dose à la naissance doit être suivie de deux à trois autres doses pour achever la première série vaccinale. Dans la plupart des cas, l'une des deux options suivantes est considérée comme appropriée:

- Calendrier de vaccination contre l'hépatite B en 3 doses, dont la première (vaccin monovalent) est administrée à la naissance et la deuxième et la troisième (vaccin monovalent ou combiné) sont injectées en même temps que la première et la troisième dose de vaccin antidiphtérique-anticoquelucheux-antitétanique (DCT), ou
- 4 doses, la première, à la naissance, de vaccin monovalent, suivie par 3 doses de vaccin monovalent ou associé, généralement administrées avec d'autres vaccins administrés systématiquement aux nourrissons.

La série vaccinale complète induit l'apparition d'une concentration d'anticorps protectrice chez plus de 95% des nourrissons, des enfants et des jeunes adultes. La protection acquise dure au moins 20 ans et s'exerce probablement tout au long de la vie. Ainsi, l'OMS ne préconise pas de vaccination de rappel pour les personnes ayant reçu le calendrier complet de vaccination en 3 doses.

MATERIEL

ET

MÉTHODES

III. MATERIEL ET METHODES

III.1. Matériel

III.1.1. Lieu de l'étude

L'étude s'est déroulée au niveau du Centre de Transfusion Sanguine de la wilaya de Tlemcen (CTS-T). C'est l'un des centres chargés de la collecte du sang, la qualification biologiques, la préparation des produits sanguins, la conservation et la distribution aux centres sanitaires habilités à pratiquer la transfusion sanguine.

III.1.2. Population étudiée

III.1.2.A. Description de la population

Notre étude concerne 11945 donneurs de sang présentés au niveau du centre de transfusion sanguine de la wilaya de Tlemcen, Les donneurs étaient recrutés au fur et à mesure de leur arrivée à la banque du sang. Une fiche simplifiée de renseignements sur l'âge, le sexe, et le type de don, était remplie par un investigateur. A l'issue de l'interrogatoire et du recueil des données sur la fiche, et l'examen clinique par les médecins, les donneurs sont sélectionnés selon les critères de l'Agence nationale du sang et classés en trois groupes :

- Les donneurs familiaux
- Les donneurs occasionnels
- Les donneurs réguliers

III.1.2.B. Type d'étude

Il s'agit d'une étude rétrospective sur la prévalence de l'antigène HBS chez 11945 donneurs de sang présentés au niveau du service de transfusion sanguine CHU Tlemcen durant la période comprise entre le mois d'Avril 2015 au mois d'Avril 2016.

-.

III.2.2.C Réactifs

- * Réactif 1 (R1) : Microplaque
- * Chaque support cadre contenant 12 barrettes est conditionne en sachet aluminium scelle.
- * Réactif 2 (R2) : Solution de lavage (concentrée 20X)
- * Réactif 3 (R3) : Contrôle Négatif
- * Réactif 4 (R4) : Contrôle Positif
- * Réactif (R6 + R7) : Conjugué
- * Réactif (R8 + R9) : Solution de révélation enzymatique
- * Réactif 10 (R10) : Solution d'arrêt

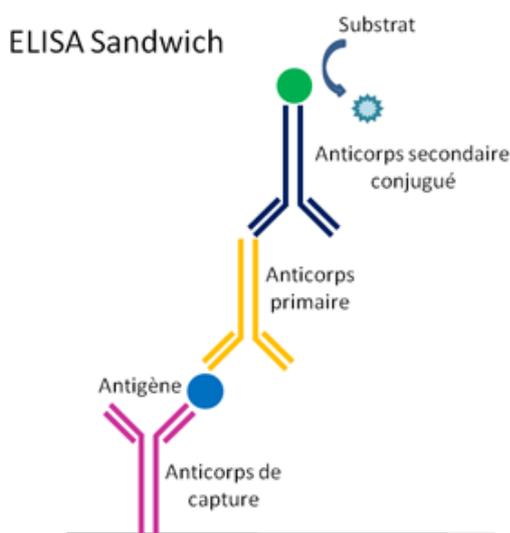
III.3 Méthodes

□□□. 3. 1 Sérologie virale par la méthode ELISA

Les sérologies virales pratiqués chez 11945 patients, ont porté sur la recherche du virus de l'immunodéficience humaine (HIV) ,de l'hépatite B (HBS) et de l'hépatite C (HCV), elles ont été réalisées au laboratoire de transfusion sanguine du CHU Tlemcen par la méthode ELISA. En cas d'un dépistage positif une confirmation par chimiluminescence est réalisée .

□□□. 3. 1. 🗨️🗨️🗨️🗨️🗨️🗨️

La technique ELISA (Enzym Linked Immuno Sorbent Assay) est une technique immuno-enzymatique de type "sandwich" en 1 temps pour la détection de l'antigène de surface du virus de l'Hépatite B (Ag HBs) dans le sérum ou le plasma humain, utilisant des anticorps monoclonaux et des anticorps polyclonaux.



Protocole 11 : Détermination de la concentration de virus dans un échantillon
 « Méthode de microtitration »

Le but de ce protocole est de déterminer la concentration de virus dans un échantillon par la méthode de microtitration. Cette méthode consiste à diluer l'échantillon dans une série de puits d'une plaque de microtitration jusqu'à ce que la coloration soit visible. La dilution qui rend la coloration visible est la dilution finale (DF). La concentration de virus est alors calculée à partir de la DF.

3.1. Matériel et réactifs

Le procédé se déroule comme suit :

- ✓ Une plaque de 96 puits (plaque de micro-titration) est préparée et une quantité connue d'anticorps dit de capture y est liée
- ✓ On fait distribuer les échantillons et les sérums de contrôle dans les cupules de la microplaque.
- ✓ On ajoute le conjugué
- ✓ incubation pendant une heure et demi à 37°C,
- ✓ lavage pour éliminer le conjugué non lié
- ✓ on fait distribuer de la solution de révélation de l'activité enzymatique
- ✓ incubation pendant 30 min en présence du substrat à l'obscurité et à température ambiante (18-30°C).
- ✓ Distribution de la solution d'arrêt. La coloration du substrat, rosée (pour les échantillons négatifs) ou bleu (pour les échantillons positifs).

3.1.1. Analyse des résultats

- Le résultat est analysé à l'œil ou dans un spectrophomètre spécialement conçu pour accepter directement les plaques de 96 puits.
- Lecture des densités optiques et interprétation des résultats
- On calcule La valeur seuil a été calculée en utilisant la formule sui

$$VS = DO_{R3} + 0,050$$

VS : Valeur Seuil

DO R3 : Densité optique moyenne du contrôle négatif (Fourni).

La valeur seuil a été donc de **0,050**.

Les ratios ont été calculés selon la formule suivante :

Pour chaque échantillon : Ratio = DO échantillon/VS

Ainsi les échantillons dont le ratio est inférieur à 1 sont considérés négatifs et les échantillons dont le ratio est supérieur ou égal à 1 ont été considérés comme initialement positifs avant d'être retestés en double pour l'interprétation finale.

La spécificité de ce test est estimée à **99,94%** et la sensibilité à **100%**.

III.4

III.4.1

La chimiluminescence est la production de lumière à la suite d'une réaction chimique. Une réaction de ce type est l'oxydo-réduction du luminol (3-aminophthalhydrazide) par l'eau oxygénée (H_2O_2), par exemple, ou un quelconque hydroxyde. Durant une réaction de chimiluminescence, une molécule de type diester ou amide entre dans un état excité et transfère cette énergie à un accepteur (porteur de luminescence). Ce dernier, afin de revenir à son état fondamental, libère un photon, d'où la luminescence.

III.4.2

Les données ont été recueillies au moyen d'une fiche technique, puis saisies et analysées à l'aide du logiciel Microsoft Excel 2010.

RÉSULTATS
ET
INTERPRÉTATION

IV. Résultats et interprétation

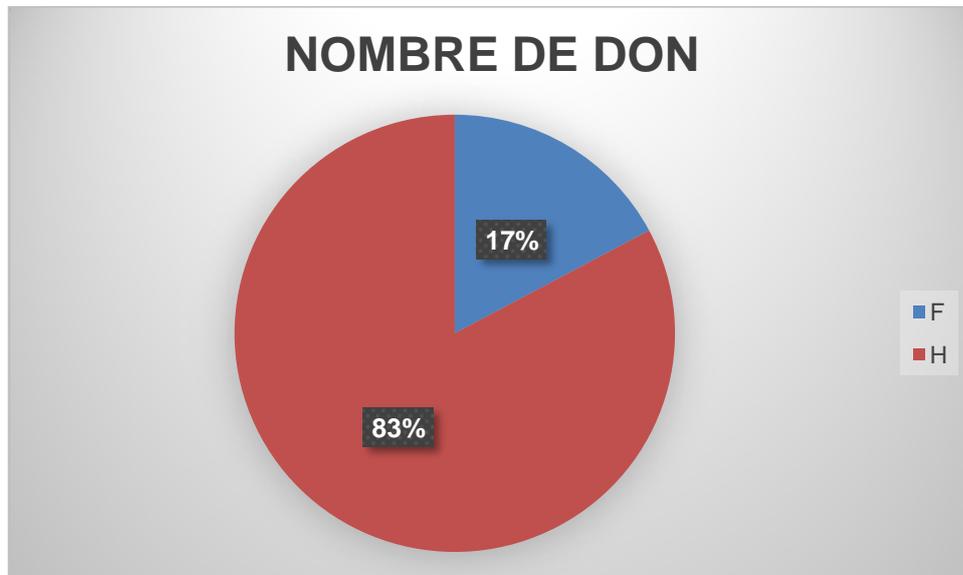
IV.1. Résultats

L'étude effectuée au sein du service banque du sang CHU Tlemcen

IV.1.1. Répartition des dons par sexe

Sexe	NOMBRE DE DON	Total général
F	2055 (17 %)	2055 (17 %)
H	9890 (83 %)	9890 (83 %)
Total général	11945 (100%)	11945 (100%)

IV.1.2. Répartition des dons par tranche d'âge



IV.1.2. Répartition des dons par tranche d'âge

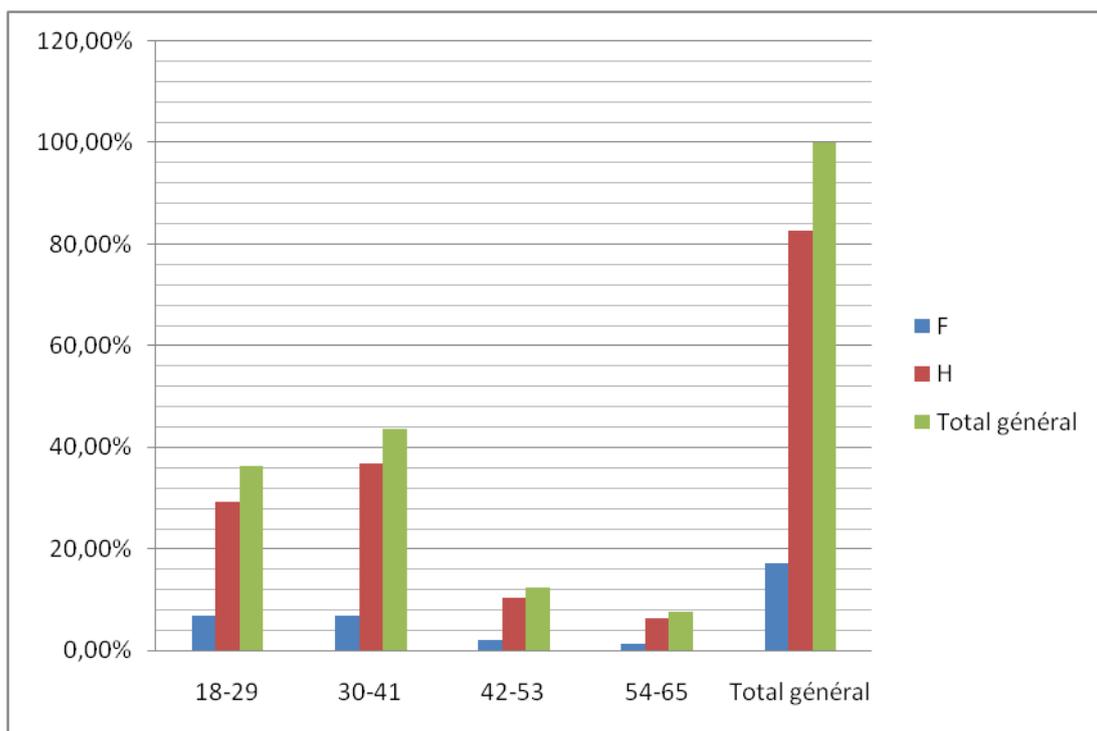
IV.1.2. Répartition des dons par tranche d'âge

TRANCHE D'AGE	FEMME	HOMME	Total général
18-29	818 (6,85%)	3505 (29,34%)	4323 (36,19%)
30-41	827 (6,92%)	4397 (36,81%)	5224 (43,73%)
42-53	251 (2,10%)	1232 (10,31%)	1483 (12,42%)
54-65	159 (1,33%)	756 (6,33%)	915 (7,66%)
Total général	2055 (17,20%)	9890 (82,80%)	11945 (100%)

IV.1.2. Répartition des donneurs de sang par tranche d'âge

L'analyse des fréquences des donneurs de sang et leur répartition selon les tranches d'âge montre que les donneurs dont l'âge est comprise entre 18 ans et 41 ans représentent la majorité des donneurs avec une fréquence de presque 80%. Cette fréquence importante et constaté chez les hommes et les femmes.

Le graphique ci-dessous illustre la répartition des donneurs de sang par tranche d'âge et par sexe. On observe que la majorité des donneurs (83%) sont âgés de 18 à 41 ans, et que cette proportion est plus élevée chez les hommes (83%) que chez les femmes (17%).



IV.1.3. Répartition des donneurs de sang par type de don

Le graphique ci-dessous illustre la répartition des donneurs de sang par type de don. On observe que la majorité des donneurs (58%) sont occasionnels, suivis des réguliers (12%) et des familiaux (30%).

SEXE	FAMILIAL	OCCASIONNEL	REGULIER	Total général
F	514(4%)	1330(11%)	211(02%)	2055(17%)
H	3078(26%)	5664(47%)	1148(10%)	9890(83%)
Total général	3592(30%)	6994(58%)	1359(12%)	11945(100%)

Figure 14: Répartition des donneurs selon le type de don

L'analyse des différents données concernant la répartition des donneurs selon le type du don montre que 58% des donneurs sont des donneurs occasionnels contre 30% de donneurs familiaux et seulement 12% de donneurs réguliers.

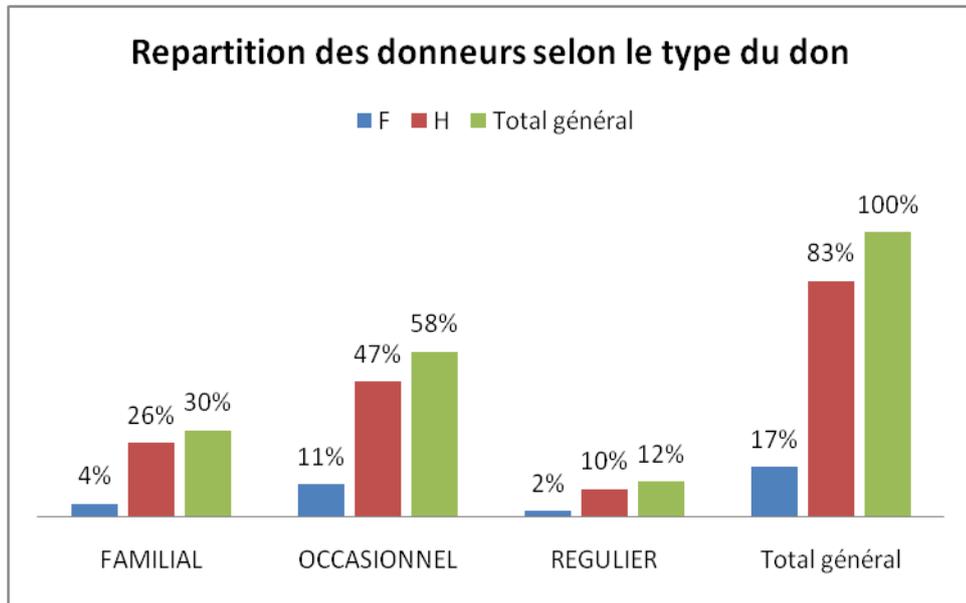


Figure 14: Répartition des donneurs selon le type de don

IV.1.4. Répartition des données selon le type de collecte

	CLINO MOBILE	COLLECTE	CTS FIXE	Total général
F	27(0,23%)	809(6,78%)	1219(10,20%)	2055(17,21%)
H	110(0,92%)	2955(24,74%)	6825(57,13%)	9890(81,79%)
Total général	137(1,15%)	3764(31,52%)	8044(67,33%)	11945(100%)

Figure 15: Répartition des données selon le type de collecte

L'analyse des données montrent que plus que le tiers du don 31% est apporté par les collectes organisées.

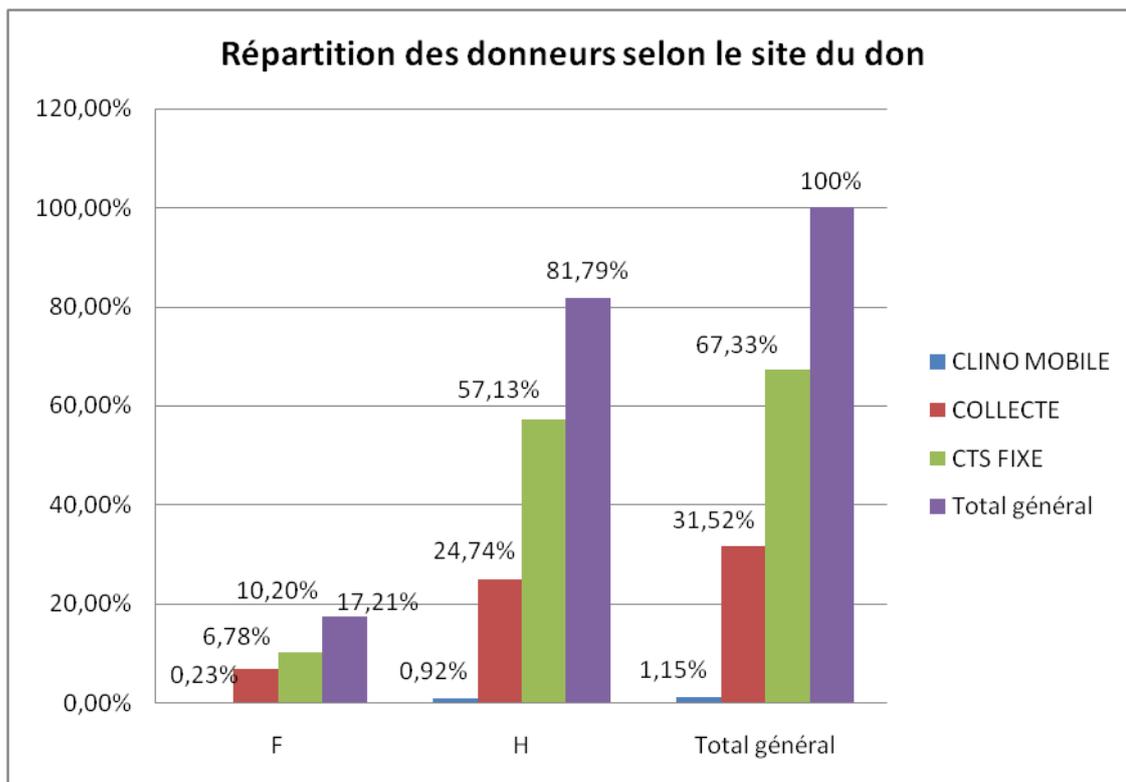


Figure 15 : Répartition des donneurs selon le site du don

IV.1.5. Seropositivité de l'Ag hbs chez les donneurs de sang

	NEGATIVE	POSITIVE	Total général
F	2051(17,17%)	4(0,03%)	2055(17,20%)
H	9864(82,58%)	26(0,22%)	9890(82,80%)
Total général	11915(99,75%)	30(0,25%)	11945(100%)

Figure 15: Seropositivité de l'Ag hbs chez les donneurs de sang

L'analyse de la seropositivité de l'Ag hbs chez les donneurs de sang montre que sa prévalence générale est de 0,25% avec une nette prédominance masculine et un sex-ratio de 5 hommes pour une femme

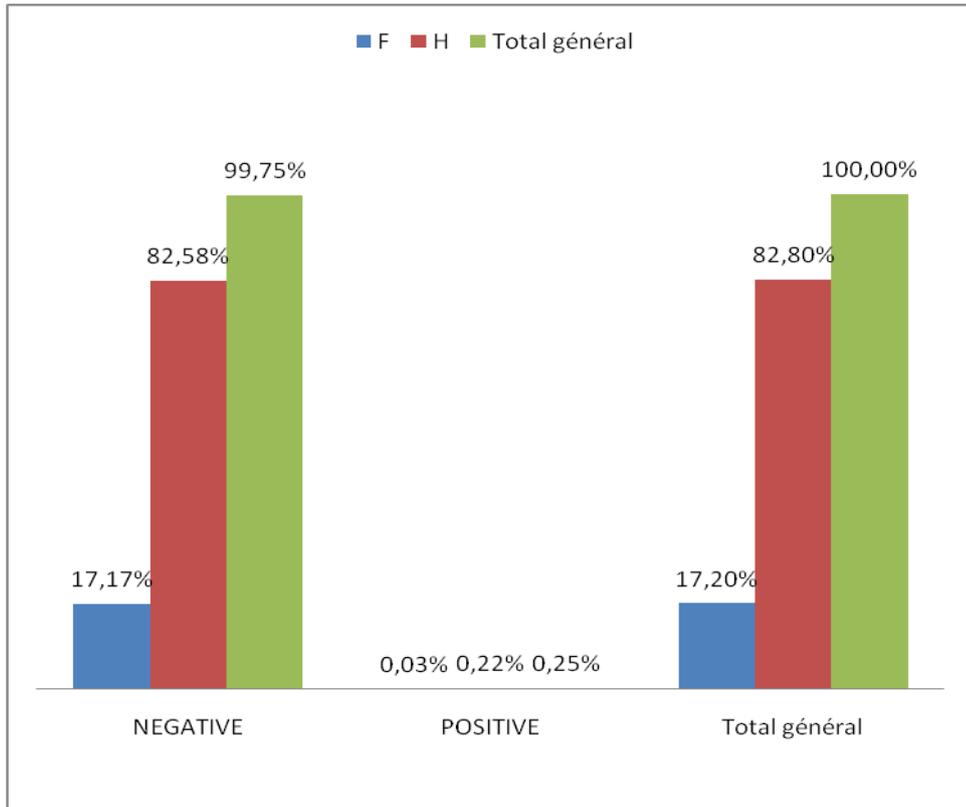


Figure 6: Résultats des tests Hbs par sexe et par statut global. Le graphique illustre la répartition des résultats négatifs et positifs pour les femmes (F) et les hommes (H), ainsi que pour l'ensemble de la population (Total général).

IV.1.6. Résultats des tests Hbs par site de collecte

SITE	NEGATIVE	POSITIVE	Total général
CLINO MOBILE	137(1,15%)	0(00%)	137(1,15%)
COLLECTE	3748(31,38%)	16(0,13%)	3764(31,51%)
CTS FIXE	8030(67,22%)	14(0,12%)	8044(67,34%)
Total général	11915(99,75%)	30(0,25%)	11945(100%)

Figure 6: Résultats des tests Hbs par site de collecte. Le tableau ci-dessus détaille le nombre et le pourcentage de donneurs négatifs et positifs pour chaque site de collecte, ainsi que pour l'ensemble de la population.

Le tableau précédent montre que la moitié des donneurs de sang Hbs positif ont été dépistés suite à des collectes de sang.

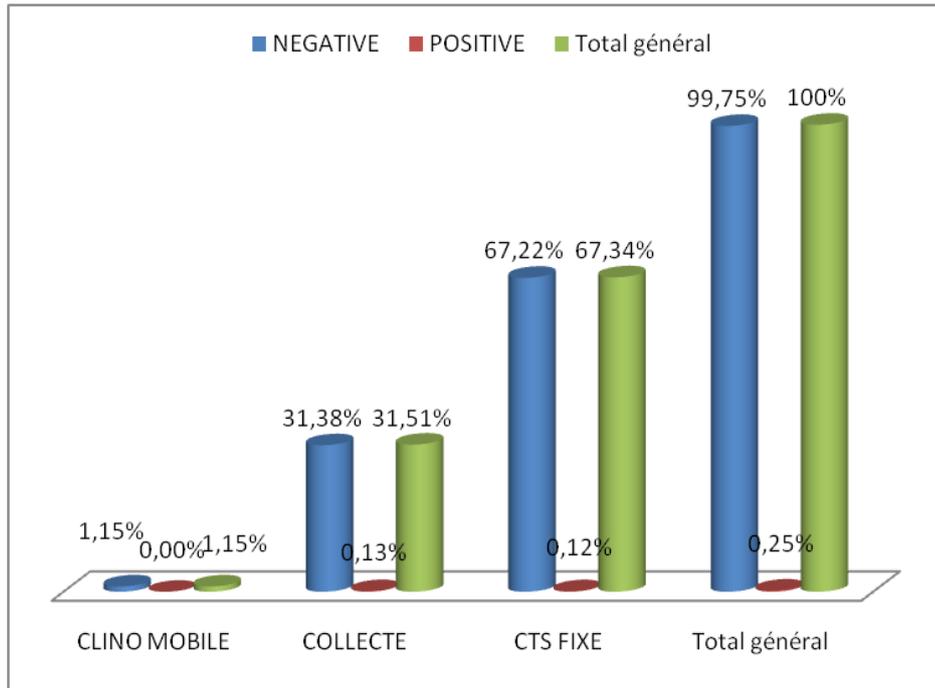


Figure 17: Répartition des résultats des tests de dépistage de l'infection à VIH par méthode de collecte.

IV.1.7. Répartition des résultats des tests de dépistage de l'infection à VIH par tranche d'âge

Figure 18: Répartition des résultats des tests de dépistage de l'infection à VIH par tranche d'âge.

TRANCHE D'AGE	NEGATIVE	POSITIVE	Total général
18-29	4309(36,07%)	14(0,12)	4323(36,19)
30-41	5216(43,67%)	8(0,07)	5224(43,73)
42-53	1476(12,36%)	7(0,05)	1483(12,42)
54-65	914(7,65%)	1(0,01)	915(7,66)
Total général	11915(99,75%)	30(0,25)	11945(100%)

Figure 18: Répartition des résultats des tests de dépistage de l'infection à VIH par tranche d'âge.

L'analyse des résultats montre que presque la moitié des donneurs seropositifs en Hbs ont l'âge comprise entre 18 et 29 ans.

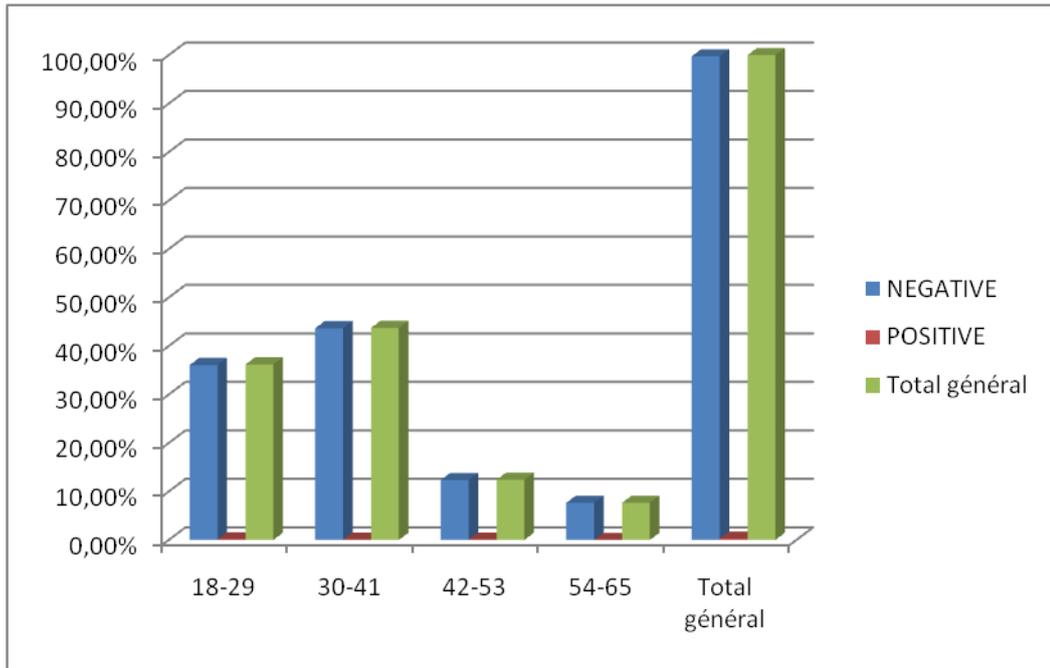


Figure 18: Feedback by age group. The chart shows that negative feedback is the most common across all age groups, with the highest percentage in the 30-41 age group. Positive feedback is consistently low across all groups.

IV.1.8. Feedback by frequency of use

The chart shows that negative feedback is the most common across all frequency categories, with the highest percentage in the 'Occasionnel' category.

	NEGATIVE	POSITIVE	Total général
FAMILIAL	3590(30,05%)	2(0,02%)	3592(30,07%)
OCCASIONNEL	6971(58,36%)	23(0,19%)	6994(58,55%)
REGULIER	1354(11,34%)	5(0,04%)	1359(11,38%)
Total général	11915(99,75%)	30(0,25%)	11945(100%)

Figure 18: Feedback by frequency of use. The chart shows that negative feedback is the most common across all frequency categories, with the highest percentage in the 'Occasionnel' category.

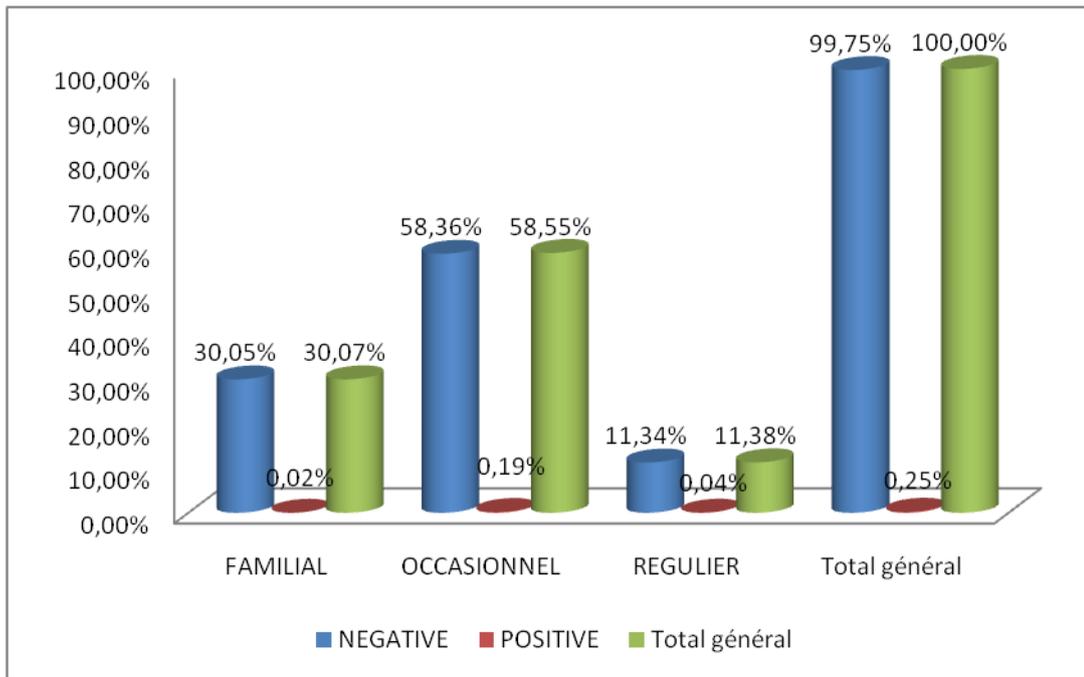


Figure 19: Répartition de la séroprévalence des donneurs par type de donneur.

Parmi les 11945 donneurs, 30Ag HBs ont été testés positifs soit une prévalence de 0.25% et 11915 négatif soit une prévalence de 99.7%

La seroprévalence selon les types de donneurs se présentait de la manière suivante :

- 2 donneurs familiaux positifs sur les 11945 testés:0.02 %et3590 donneurs négatifs soit une fréquence de 30%
- 23 donneurs occasionnel positifs sur les 11945 testés:0.2 %et6979donneurs négatifs soit une fréquence de 58%
- 5 donneurs réguliers positifs sur les 11945 testés:0.04 %et1354 donneurs négatifs soit une fréquence de 11%

DISCUSSION

DISCUSSION

L'hépatite B occulte est définie par la présence de l'Ag HBs dans le sang, et caractérisée par la présence de l'ADN du VHB dans le sérum et/ou dans le foie d'un patient dont l'Ag Hbs n'est pas détectable par les tests sérologiques usuels. En pratique, il convient d'exclure deux situations susceptibles de mimer une hépatite occulte.

1- A la phase d'incubation d'une infection par le VHB caractérisée par une fenêtre immunologique ou l'Ag HBs ne s'est pas encore positivé, alors même que l'ADN viral B est présent.

2- Pendant la période de guérison caractérisée par la disparition de l'Ag HBs, et où le génome du VHB est encore détectable avec les anticorps correspondants. Les mécanismes intervenant dans le maintien d'un faible niveau de réplication virale en l'absence d'Ag HBs détectable restent à définir, mais plusieurs hypothèses ont été proposées et ont fait l'objet de nombreuses études. [29]

En effet le risque de contamination d'une hépatite B par transfusion d'un sang testé AgHBs positif chez un donneur Ag HBs négatif est connu depuis le constat de la transmission du VHB lors d'une transfusion dans un contexte d'hépatite occulte. [30]

Notre étude rapporte une séroprévalence globale des AgHBs chez les donneurs de sang au niveau du service de banque du sang.

Dans le présent travail nous avons réalisé une étude rétrospective de la prévalence de l'AgHBs chez les donneurs de sang entre la période s'étalant du mois d'Avril 2015 au mois d'Avril 2016.

Notre population d'étude comporte 11945 donneurs de sang, elle est constituée de presque 85% des sujets de sexe masculin pour 15% de sexe féminin avec un sex-ratio de 5 homme pour une femme. Cette proportion est similaire à celle retrouvée par Batina et *al* soit 75% de sexe masculin. Cependant, cela ne veut pas dire que le sexe masculin est prédominant chez l'ensemble des porteurs de l'Ag HBs. Ceci s'explique par le fait que la population des donneurs de sang est constituée en grande partie des hommes, soit 83,05% pour notre étude et 91,17% pour Michakanda et *al*. Par ailleurs, dans une population autre que les donneurs de sang, la différence entre les deux sexes n'est pas significative car Makuwa et *al* ont trouvé un sex-ratio de 0,83 dans une population hospitalisée à Brazzaville.

Pour notre étude le nombre de don apporté les collectes représente 30% du total du don, ce qui représente le tiers du total du don ce qui explique l'importance des collectes dans la récolte du sang, en plus sur l'ensemble des donneurs testés positifs pour l'AgHBs, presque 50% ont été dépistés suite aux collectes du sang.

Dans notre population nous avons pu dépister 30 cas positifs pour l'AgHBs se qui représente 0,25 % du total du don

La majorité soit 26 donneurs sont de sexe masculin contre 4 de sexe féminin, ceci ne veut dire que la prévalence de l'hbs est plus important chez l'homme que la femme parce que notre population est faite presque de 80% de donneurs de sexe masculin, mais on peut constater si on compare les fréquences des dons et de la présence de l'Aghbs en fonction du sexe qu'il n'y a pas de différence dans la prévalence de l'infection HBs selon le sexe.

L'analyse des données montre que 23 des donneurs sero-positifs pour le Hbs sont des donneurs occasionnels ce qui représente plus que 75% du total des donneurs du sang sero-positifs et correspond au total général des donneurs ou les donneurs familiaux et occasionnels représentent 76% de tous les donneurs. Ceci montre que le don de sang a aidé au dépistage de l'infection Hbs méconnu jusqu'à ce jour chez ces donneurs occasionnels.

05 donneurs réguliers ont été dépistés positifs pour le hbs se qui montre qu'un don de sang a permis de dépister une infection récente se qui va améliorer la prise en charge de ces donneurs

Notre étude a concerné la population des donneurs de sang et le don de sang est autorisé à partir de 18 ans jusqu'à 60 ans. Il est donc peu probable que l'âge soit un facteur susceptible d'influencer la qualité des résultats. La prévalence de l'aghbs est plus fréquente chez les donneurs de sang dont l'âge est compris entre 18 et 29 ans avec 14 donneurs sero-positifs soit presque 50% de la totalité des donneurs dépistés positifs pour le HBS, donc on peut déduire que la prévalence de l'infection Hbs est plus importante chez le jeune que l'adulte ceci peut être dû au mode de contamination souvent évoqué.(transmission sexuelle).

Dans notre étude, on n'a pas pu avoir les résultats de la charge virale ainsi que le suivi sérologiques sur 06 mois des patients séropositifs pour le Hbs afin de distinguer les donneurs avec une infection aiguë ou bien ceux dont l'infection a passé à la chronicité chose qui serait intéressant d'étudier dans d'autres études.

CONCLUSION

ET

PERSPECTIVE

V. CONCLUSION ET PERSPECTIVE :

L'infection virale B pose donc du fait de son évolution potentielle vers la cirrhose et le carcinome hépatocellulaire, un problème majeur de santé publique, particulièrement dans les pays en voie de développement qui sont souvent des zones de haute endémie pour cette infection.

Ceci rend nécessaire l'intensification et l'universalisation de la vaccination. L'histoire naturelle de l'hépatite B est caractérisée par la diversité des profils clinico-virologiques allant du portage inactif voire sain à la cirrhose compliquée de carcinome hépatocellulaire. Environ 20 % des patients porteurs chroniques de l'antigène HBs évolueront vers la cirrhose avec alors une incidence annuelle du CHC de l'ordre de 3 à 5 %. À côté des facteurs épidémiologiques,

les principaux paramètres modifiant l'histoire naturelle de l'infection B sont le niveau de charge virale B, l'immunosuppression et les cofacteurs incluant l'infection associée par le VHD et la surconsommation d'alcool. Son évolution peut être marquée par les modifications parfois brutales de la réplication virale avec l'existence d'arrêts spontanés de la multiplication virale et de réactivations. Cette diversité rend compte de la physio-pathogénie de cette infection résultant de l'interaction hôte-virus mais aussi de la complexité de ce virus (intégration, mutation, réplication résiduelle).

Le diagnostic d'infection chronique par le VHB justifie une évaluation de son impact hépatique qui conduira la conduite thérapeutique éventuelle : le bénéfice d'une viro-suppression efficace est clairement montré chez les patients les plus graves.

Le suivi sérologique des donneurs séropositifs pour l'Hépatite B ainsi que la charge virale constituent deux moyens capitaux afin de définir le type d'infection et d'instaurer une thérapeutique adéquate, chose qui sera intéressante d'analyser dans d'autres études.

Nous recommandons de compléter cette étude par le dépistage de l'ADN viral B chez les donneurs de sang testés (Ag HBs positif) afin d'évaluer le risque de passage vers la chronicité et envisager un traitement adéquat pour ces donneurs

ANNEXES

REFERENCES :

1. OMS, MARS 2015.
2. Omata, M., et al., Mutations in the precore region of hepatitis B virus DNA in patients with fulminant and severe hepatitis. *New England Journal of Medicine*, 1991. **324**(24): p. 1699-1704.
3. Lepère-Douard, C. and P. Gripon, Entrée du virus de l'hépatite B. *Virologie*, 2010. **14**(4): p. 269-284.
4. Blumberg, B.S. and H.J. Alter, A new antigen in leukemia sera. *Jama*, 1965. **191**(7): p. 541-546.
5. S, B.B., Encyclopédie Microsoft Encarta Encyclopédie Microsoft Encarta, 2010.
6. Doerr, H.W. and W.H. Gerlich, Medizinische Virologie. Grundlagen, Diagnostik und Therapie virologischer Krankheitsbilder. Thieme Verlag, Stuttgart, Kap, 2002. **26**: p. 833-9.
7. Brechot, C., et al., Detection of hepatitis B virus DNA in liver and serum: a direct appraisal of the chronic carrier state. *The Lancet*, 1981. **318**(8250): p. 765-768.
8. Maiga, I., et al., Evolution du virus de l'hépatite B. *Bull Soc Fr Microbiol*, 2003. **18**: p. 281-286.
9. Dane, D., C. Cameron, and M. Briggs, Virus-like particles in serum of patients with Australia-antigen-associated hepatitis. *The Lancet*, 1970. **295**(7649): p. 695-698.
10. Heermann, K., et al., Large surface proteins of hepatitis B virus containing the pre-s sequence. *Journal of virology*, 1984. **52**(2): p. 396-402.
11. Satoh, O., et al., Membrane structure of the hepatitis B virus surface antigen particle. *Journal of biochemistry*, 2000. **127**(4): p. 543-550.
12. Chai, N., et al., Properties of subviral particles of hepatitis B virus. *Journal of virology*, 2008. **82**(16): p. 7812-7817.
13. <http://www.molecular-virology.uni-hd.de>.
14. Schlicht, H.J., J. Salfeld, and H. Schaller, The duck hepatitis B virus pre-C region encodes a signal sequence which is essential for synthesis and secretion of processed core proteins but not for virus formation. *Journal of virology*, 1987. **61**(12): p. 3701-3709.
15. Chang, L., et al., Effects of insertional and point mutations on the functions of the duck hepatitis B virus polymerase. *Journal of virology*, 1990. **64**(11): p. 5553-5558.
16. Zoulim, F., J. Saputelli, and C. Seeger, Woodchuck hepatitis virus X protein is required for viral infection in vivo. *Journal of virology*, 1994. **68**(3): p. 2026-2030.
17. Schaller, H. and M. Fischer, Transcriptional control of hepadnavirus gene expression, in *Hepadnaviruses*. 1991, Springer. p. 21-39.

-
18. Schaller H, Fischer M. Transcriptional control of hepadnavirus gene expression. In : Current topics in microbiology and immunology. Hepadnaviruses. Molecular biology and pathogenesis. Mason W.S. and Seeger C., Eds. Springer-Verlag, Berlin, 1991 ; 41-60.
 19. Schek N, Fisher M, Schaller H. The hepadnaviral X protein. In : Molecular biology of the hepatitis B virus. Mc Lahlan A, Ed. CRC press, Florida, 1991 : 181-92.
 20. Kekule AS, Lauer U, Weiss L, Luber B, Hofschneider PH. Hepatitis B virus transactivator HBx uses a tumour promoter signalling pathway. Nature 1993 ; 361 : 742-5.
 21. Huang J, Kwong J, Sun E, Liang T. Proteasome complex as a potential cellular target of hepatitis B virus X protein. J Virol 1996 ; 70 : 5582-91
 22. Schek, N., M. Fisher, and H. Schaller, The hepadnaviral X protein, in Molecular Biology of the Hepatitis B virus. 1991, CRC Press Florida. p. 181-192.
 23. Gilbert, R.J., et al., Hepatitis B small surface antigen particles are octahedral. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2005. **102**(41): p. 14783-14788.
 24. Bruss, V., Hepatitis B virus morphogenesis. World Journal of Gastroenterology, 2007. **13**(1): p. 65.
 25. Tuttleman, J.S., C. Pourcel, and J. Summers, Formation of the pool of covalently closed circular viral DNA in hepadnavirus-infected cells. Cell, 1986. **47**(3): p. 451-460.
 26. Junker-Niepmann, M., R. Bartenschlager, and H. Schaller, A short cis-acting sequence is required for hepatitis B virus pregenome encapsidation and sufficient for packaging of foreign RNA. The EMBO journal, 1990. **9**(10): p. 3389.
 27. Wang, G.-H., et al., Role of RNA in enzymatic activity of the reverse transcriptase of hepatitis B viruses. Journal of virology, 1994. **68**(12): p. 8437-8442.
 28. Birama, D., Caractérisation moléculaire des génotypes du virus de l'hépatite B (VHB) chez les donneurs de sang du centre régional de transfusion sanguine université DE OUAGADOUGOU. 2013.
 29. Mazet, A., Etude des souches du virus de l'hépatite b dans le compartiment sérique et leucocytaire chez des patient présentant une infection b occulte et chez des temoins. université de lemoge, 2006.
 30. ZEBA, M.T.A., Thèse, Coinfection des virus des hépatites B et C au Burkina Fasou 2012.

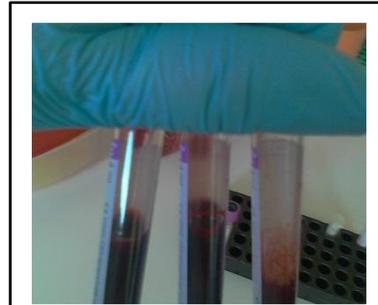
31. Pawlotsky, J.M., Molecular diagnosis of viral hepatitis. *Gastroenterology*, 2002. **122**(6): p. 1554-1568.

32. Biwolé Sida M1, Jeatsa Gapdo C2., Mbangue M2., Essola J2., Leundji H2., Dissongoi J2. l'Hôpital Laquintinie de Douala, Prévalence de l'anticorps Hbc chez les donneurs de sang Ag Hbs négatifs, *HealthSci. Dis*: Vol 16 (1) January – February - March 2015

Matériel du laboratoire



TUBES EDTA



LE SANG



**MICROPIPETTES 500UL
,1000UL,1000UL ET 10
ML**



**LA TROUSSE
MONOLISA HBS AG
ULTRA**



CENTRIFUGEUSE



**ECHANTILLONS APRÈS
CENTRIFUGATION**



**SYSTÈME DE LAVAGE
POUR MICROPLAQUE**



INCUBATEUR THERMOSTATÉ

A 37°C



MICROPLAQUE



SOLUTION D'ARRÊT



SOLUTION DE LAVAGE



CHROMOGÈNE



Monolisa Ag HBs de type "sandwich"

Résumé :

La transfusion sanguine est une discipline aux confins de l'hématologie et de l'immunologie : elle implique la médecine, la biologie, la bio-industrie et la sociologie ; elle repose sur l'éthique.

Elle consiste à administrer le sang ou l'un de ses composants (globules rouges, plaquettes, granulocytes, plasma, protéines) provenant d'un ou plusieurs sujets appelés « donneurs », à un ou plusieurs sujets malades appelés « receveurs ».

L'Algérie est classée comme pays de moyenne endémicité avec un taux de prévalence l'hépatite B qui varie entre 2 et 8 %. À l'échelle nationale

L'objectif de ce travail Il s'agit d'une étude rétrospective sur la prévalence de l'antigène HBs chez 11945 donneurs de sang présentés au niveau du service de transfusion sanguine CHU Tlemcen durant la période comprise entre le mois d'Avril 2015 au mois d'Avril 2016., une recherche systématique de l'AgHBs a été effectuée chez les donneurs de sang. L'échantillonnage était composé de trois catégories de donneurs (familiaux N : 3592, Occasionnels N : 6994 et Réguliers N : 1359). Nous avons inclus tout donneur de sang testé négatif pour les marqueurs Ag HBs, Ac VHC, Ac VIH et TPHA. Les différents marqueurs viraux ont été recherchés par méthode immuno-enzymatique ELISA.

Sur les 11945 donneurs inclus dans cette étude (9890 hommes et 2055 femmes), La prévalence a été plus élevée chez les individus du sexe homme 83% et la tranche majoritaire d'âge de [30-41]ans (43.73%). Elle a été également plus élevée chez les donneurs occasionnels (58.55%) que chez les familiaux (30.07%) et les réguliers (11.67%).

Durant la période d'étude on a testé 30 Ag HBS positifs soit une prévalence 0.25% ont été dépistés par méthode ELISA de type « Sandwich » et 11915 négatifs soit une prévalence de 99.7%.

Mots clés : Transfusion sanguine, Donneurs, Prévalence, HBV, Eliza

Abstract :

Blood transfusion is a discipline on the borders of hematology and immunology: it involves medicine, biology, bio-industry and sociology; it is based on ethics.

It consists of administering blood or any of its components (red cells, platelets, granulocytes, plasma proteins) from one or more subjects called "donors" to one or more sick patients called "recipients".

During the study period were tested 30 HBS Ag positive for a prevalence 0.25% were detected by ELISA type "Sandwich" and negatives 11915 a prevalence of 99.7%.

Algeria is classified as intermediate endemicity countries with a prevalence rate of hepatitis B that varies between 2 and 8%. At national scale.

The aim of this study This is a retrospective study on the prevalence of HBsAg among 11945 blood donors presented at the blood transfusion service Tlemcen University Hospital during the period from the month of April 2015. months of April 2016, a systematic search of HBsAg was performed in blood donors. The sample was composed of three categories of donors (family N: 3592, N Casual: 6994 and Regular N: 1359). We included all blood donor tested negative for markers HBsAg, HCV Ab, Ac HIV and TPHA. The different viral markers were detected by Elisa.

Of the 11945 donors included in this study (9890 men and 2055 women) Prevalence was higher among individuals male sex 83% and the majority of age [30-41] years old (43.73%). It was also higher among occasional donors (58.55%) than in the family (30.07%) and regular (11.67%).

Key words : Blood transfusion, Donors, prevalence – HBV -, Eliza

