

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Blida -1-
Faculté des sciences de la nature et de la vie
Département de biologie et physiologie cellulaire



Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme
de Master en Biologie
Option : Génie biologique

Thème

Séroprévalence de l'hépatite virale C
chez les malades polytransfusés

Présenté par :

M^{lle} AZIRA Amel

M^{lle} CHERIT Hafida

Devant le jury:

Dr DEBIBA.

MCB

Université Blida 1

Présidente

Dr HAMAIDIF.

MCA

Université Blida 1

Examinatrice

M^{me} BOKRETA S.

MAB

Université Blida 1

Promotrice

Promotion : 2014-2015

Remerciement

Avant toute chose, nous tenons à remercier Dieu, le tout puissant, qui nous a donné

Le courage, la patience et la force pour réaliser ce travail.

Nos vifs remerciements s'adressent :

Aux honorables membres du jury :

Dr DEBIB A., Maitre de conférence à l'université de Blida 1, pour l'honneur qu'elle nous fait en acceptant de présider le Jury de notre mémoire, Soyez assurée de notre vive reconnaissance et de notre profond respect.

Nous voudrions également remercier Dr HAMAIDI F., Maitre de conférence à l'université de Blida 1, pour avoir accepté d'être l'examinatrice de ce travail, Veuillez accepter nos remerciements ainsi que le témoignage de notre respect et notre gratitude.

Un grand Merci à notre promotrice M^{me} Bokreta S., Maitre assistante à l'université de Blida 1, pour la qualité de son encadrement, pour son aide, son écoute attentive et sa sympathie.

Enfin, Nous profitons de l'occasion pour remercier aussi toute l'équipe du laboratoire de l'EPSP Ouled Yaich pour leur accueil, leur soutien et leur gentillesse,

Sans oublier la grande famille de biologie : enseignants, étudiants et

Administrateurs.

Merci infiniment à tous pour tout...

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail

*A la lumière de ma vie, le plus beau don de dieu : mon père
Tu as tout donné pour ma réussite. C'est en grande partie grâce à vous que
j'ai pu grandir, avancer et réussir; que dieu vous garde.*

*Je dédie aussi ce travail à l'esprit de ma mère, qui restera toujours dans
mon cœur et mes pensées.*

Une grande dédicace :

A mes très chères sœurs : Fella, Kenza et Amina

A mes chers petits : Nouha et Sifo

*A tous mes amis, En particulier, mon binôme Hafida
à qui je souhaite une vie pleine de bonheur et de succès
Ainsi qu'à sa famille.*

A toute la promotion de génie biologique 2014/2015.

Amel
Amel



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

À mon père **TAHAR** qui a souhaité vivre pour longtemps juste pour nous voir
qu'est ce que nous allons devenir.

À celle qui ma transmis la vie, l'amour, le courage, à toi chère **mama ARJOUNA**
toutes mes joies, mon amour et ma reconnaissance.

À mes chers frères **BILEL, NABIL** et sœurs **ZAHIA, SARA**, Vous vous êtes
dépensés pour moi sans compter.

En reconnaissance de tous les sacrifices consentis par tous et chacun pour me
permettre d'atteindre cette étape de ma vie.

À toutes mes amies : **MALIKA, ZINEB, SARA, AMEL, SAÏDA, NACERA** et à
tous ceux qui me connaissent surtout pour toi **SOUHAIB**.

Je tiens aussi à mentionner le plaisir que j'ai eu à effectuer mon stage au sein d'
EPSP Ouled Aiche, CTS de BLIDA et j'en remercie tous les membres.

À ma chère amie, mon binôme **AMEL**, qui m'a supporté durant ces trois dernières
années et chez qui j'ai trouvé l'entente dont j'avais besoin.

À tous mes camarades de la promotion **2014-2015**

À tout ceux et celles qui me sont chers.

Hafida

Hafida



Liste des Figures

Figure	Titre	Page
Figure 1	Anatomie de foie.	1
Figure 2	Structure du VHC.	3
Figure 3	Organisation génomique et protéique du virus de l'hépatite C.	4
Figure 4	Étapes précoces du cycle cellulaire du VHC.	7
Figure 5	Étapes du cycle de réplication du VHC.	8
Figure 6	Évolution naturelle de l'hépatite C.	13
Figure 7	Différents types de test Elisa.	15
Figure 8	Principe ELISA indirect.	18
Figure 9	Plaque ELISA pour anti-HCV.	19
Figure 10	Distribution de sérum, PC, NC.	19
Figure 11	Lavage 5 fois.	19
Figure 12	Distribution de conjugué.	20
Figure 13	Distribution de substrat.	20
Figure 14	Distribution de solution STOP.	20
Figure 15	Lire la Densité Optique.	20
Figure 16	Microplaque vue du haut après la lecture de Densité Optique	21
Figure 17	Séroprévalence du HCV chez les polytransfusés	23
Figure 18	Séroprévalence du HCV chez les témoins	24
Figure 19	Séroprévalence du HCV selon le sexe chez les polytransfusés	24

Liste des Figures

Figure 20	Séroprévalence du VHC selon les tranches d'âge	25
Figure 21	Séroprévalence du VHC selon le type de pathologie	26
Figure 22	Séroprévalence du VHC selon le statut matrimonial	26
Figure 23	Fiche de renseignement pour l'infection VHC	Annexe I
Figure 24	Lecteur densité optique (Spectrophotomètre 420-460)	Annexe II
Figure 25	Laveur automatique des microplaques	Annexe II
Figure 26	Coffret HUMAN HCV antibody EIA Test Kit.	Annexe III

Liste des Abréviations

Abréviation	Désignation
ADN_c	ADN complémentaire
CD81	Groupes de Différenciation 81
CHC	Carcinome Hépatocellulaire
CLDN1	Protéines de Jonctions Serrées Claudin-1
CTS	Centre de Transfusion Sanguine
DO	Densité Optique
ELISA	Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
GAG	Glycosaminoglycanes
HRG	Groupes à Haut Risque
IDUs	Intra Consommateurs de Drogue Veineux
IFN	Interféron
IRES	Site d'Entrée Interne du Ribosome
LD	Gouttelettes lipidiques
LDL_r	Récepteur de lipoprotéine de faible densité
NS	Non Structurale
OCLN	Occludines
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
PCR	Polymérase Chain Réaction

Liste des Abréviations

SR-BI	Récepteur Cellulaire Scavenger Classe B site I
VIH	Virus de l'Immunodéficience Humaine
VHA	Virus de l'Hépatite A
VHB	Virus de l'Hépatite B
VHC	Virus de l'Hépatite C
VHD	Virus de l'Hépatite D
VHE	Virus de l'Hépatite E
VHG	Virus de l'Hépatite G
VS	Valeur Seuil

Liste des Tableaux

N° Tableau	Titre	Page
I	La séroprévalence de virus de l'hépatite C selon des pays arabes.	11
II	Caractéristiques socio-démographiques chez les deux populations d'études	23
III	Composition de coffret HUMAIN HCV antibody	Annexe III
IV	Tableau représente la plaque Elisa et regroupe les absorbances à 420 nm mesurées dans les différents puits.	Annexe V

Sommaire

INTRODUCTION

CHAPITRE I : RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

I.1.Généralité	1
I.1.1. Anatomie et physiopathologie du foie.....	1
I. 1.1. Anatomie.....	1
I.1.2. Fonction hépatique.....	1
I.1.3. Physiopathologie.....	2
I.2. Hépatites virales.....	2
I.2.Virus de l'hépatite C	2
I.2.1. Historique.....	2
I.2.2.Taxonomie.....	3
I.2.3. Structure.....	3
I.2.4 Récepteurs de VHC.....	6
I.2.5. Cycle viral.....	6/7
I.2.6. Variabilité génétique.....	8
I.3. Mode de transmission	9
I.3.1. Transmission Parentérale.....	9
I. 3.2. Autres mode de transmission.....	10
A. Transmission sexuelle	10
B. Transmission mère-enfant.....	10
A. Transmission iatrogène	10
B. Contamination professionnelle.....	10
I.4. Epidémiologie	10
I.4.1. Prévalence de l'hépatite C	10
I.4.1.1. Situation dans le monde.....	11
I.4. 1.2. Situation dans le monde Arabe.....	11
I.5.Clinique et l'évolution de l'hépatite C	12
I.5.1. Hépatite aigue	12
I.5.2. Hépatite chronique.....	12
I.5.3. Cirrhose et carcinome hépatocellulaire.....	12
I.6.Diagnostic Virologique	13

Sommaire

I.6.1. Diagnostic indirect.....	13
I.6.2. Diagnostic direct.....	15
I.7. Traitement.....	16
I.8. Prévention.....	16
I.8.1. Prévention primaire.....	16
I.8.2. Prévention secondaire et tertiaire	16
 CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES	
II.1. Matériel.....	17
II.1.1. Type d'étude.....	17
II.1.2. Echantillons biologiques.....	17
II. 1.2.1. Population d'étude.....	17
II. 1.2.2. Critères d'inclusion et d'exclusion.....	17
II.2.Méthodes.....	18
II.2.1. Prélèvement sanguin.....	18
II.2.2. Dépistage sérologique du HCV.....	18
II.2.2.1. Principe du test ELISA indirecte.....	18
II.2.2.2. Description du kit.....	19
II.2.2.3. Mode opératoire.....	19
II.2.2.4.Calcul et interprétation des résultats.....	19
II. 2. 3. Analyse statistique.....	20
 CHAPITR III : RESULTATS ET DISCUSSION	
III.1. Résultats.....	22
III.1.1. Caractéristiques socio-démographiques.....	22
III.1.1.1.Caractéristiques socio-démographiques chez les deux populations d'études.....	22
III.1.2. Prévalence des anticorps anti-HCV.....	23

Sommaire

III.1.3. Séroprévalence des anticorps anti-HCV chez les patients polytransfusés selon le sexe.....	24
III.1.4. Séroprévalence du HCV en fonction de l'âge chez les patients polytransfusés.....	25
III.1.5. Prévalence des anti-HCV selon la pathologie.....	25
III.1.6. Séroprévalence des anticorps anti-HCV selon le statut matrimoniale.	26
III.2. DISCUSSION	27

CONCLUSION

PERSPECTIVES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

Résumé

L'hépatite virale C représente un problème majeur de santé publique. Une étude transversale a été menée sur une période de deux mois, allant du 21 mars au 21 mai 2015. Elle porte sur 202 échantillons de sang prélevés chez 102 malades polytransfusés et chez 100 donneurs de sang servant de témoins jamais transfusés. La technique ELISA de 3^{ème} génération a été utilisée pour la détection des anticorps anti-VHC. La séroprévalence globale des anticorps anti-VHC dans les deux groupes est de 5,9 %, soit 12 patients sur 202. Au sein du groupe des polytransfusés, cette prévalence s'établit à 10,8 %, contre 1,0 % au sein du groupe témoin. La prévalence de l'hépatite virale C dans la population polytransfusées est 10 fois plus élevée que chez les donneurs de sang (10.8% vs 1.0%, $p = 0.003$). La prévalence de VHC dans la population masculine était 2 fois plus élevée que chez les femmes avec 15.8% contre 7.8%, mais cette différence n'était pas statistiquement significative ($p = 0.2$). Selon la pathologie, cette étude démontre une séroprévalence élevée sur les sérums prélevés chez des patients atteints d'hémopathie. Les patients atteints de leucémie ont une prévalence de 33,3 %, suivis des patients bêta-thalassémiques 18.2 %. Les divorcés avaient une prévalence de 50.0%, cinq fois plus élevée que celle des personnes mariées avec 10.3% ($p = 0.02$). Elle était nulle chez les célibataires. D'après les résultats de notre étude, il apparaît clairement que la prévalence de marqueur sérologique de l'hépatite virale C chez les polytransfusés est assez préoccupante. Vu la haute prévalence de l'hépatite C dans cette population à haut risque, on estime que des mesures préventives sont nécessaires pour limiter cette transmission.

Mots clés:

Séroprévalence, Virus d'hépatite C, Polytransfusés, Donneurs de sang, ELISA.

ملخص

يعد التهاب الكبد الفيروسي (س) مشكل رئيسي ل لصحة العمومية .ولهذا السبب قمنا بهذه الدراسة وقد أجريت دراسة مقطعية خلال مدة شهرين وذلك من الفترة ما بين 21 مارس - 21 مايو 2015 . شملت هذه الدراسة 202 عينة من الدم ،ضمت 102 عينة اخذت من المرضى الذين تلقوا اكثر من عملية نقل دم و 100 عينة اخذت من متبرعين بالدم .تم استخدام تقنية ELISA الجيل 3 للكشف عن الاجسام المضادة ضد الفيروس (س). كانت نسبة الانتشار المصلي العام للأجسام المضادة ضد الفيروس (س) في كلا المجموعتين 5.9 بالمئة ما يعادل 12 مريضا من 202. في مجموعة المرضى الذين تلقوا اكثر من عملية نقل الدم كانت النسبة 10.8 بالمئة مقابل 1 بالمئة عند المتبرعين بالدم .اي 10 مرات أعلى (10.8% مقابل 1.0%، $p=0.003$). عند الذكور نسبة الانتشار هي 15.8 بالمئة مقابل 7.8% عند الاناث اي مرتين أعلى، الا ان هذا الفرق لم يكن ذا دلالة احصائية ($p=0.2$) . حسب نوع المرض توضح هذه الدراسة ان معدل الانتشار المصلي للفيروس مرتفع عند مرضى الدم حيث ان نسبة الانتشار المصلي عند مرضى سرطان الدم هي 33.3%، تليها نسبة 18.2% عند مرضى الثلاسيميا نوع بيتا . حسب الحالة الاجتماعية، وجدنا عند فئة المطلقين نسبة 50.0%، وهي نسبة خمس مرات أعلى من الاشخاص المتزوجين (10.3% . $p=0.02$) ،اما عند الاشخاص الغير المتزوجين فالنسبة كانت معدومة . بينت نتائج هذه الدراسة ان انتشار العلامات المصلية لالتهاب الكبد الفيروسي (س) مرتفع عند المرضى الذين تلقوا اكثر من عملية نقل الدم وهو امر مقلق يستدعي وضع تدابير وقائية للحد من هذا الانتشار .

الكلمات المفتاحية :

ELISA ، الانتشار المصلي، التهاب الكبد الوبائي، عمليات نقل الدم متعددة، متبرعين بالدم

Abstract

Hepatitis C virus (HCV) is a major public health problem. A cross-sectional study was carried out over a period of 2 months, from 21 March to 21 May 2015. It deals with 202 samples of blood taken on 102 multitransfused patients and 100 blood donors as controls who have never been transfused. Third generation ELISA was used to detect anti-HCV antibodies. The overall prevalence of anti-HCV antibodies in both groups was 5.9%, 12 of 202 patients. Within the group of multitransfused, this prevalence was 10.8%, against 1.0% in the control group. HCV prevalence in multitransfused population was 10 times higher than among blood donors (10.8% vs 1.0%, $p = 0.003$). The prevalence of HCV among males was 2 times higher than in females with 15.8% against 7.8%, but this difference was not statistically significant ($p = 0.2$). Depending on the pathology, the study demonstrated a high prevalence of HCV in sera taken from patients suffering from hemopathy. Leukemia patients have an HCV prevalence of 33.3%, followed by beta-thalassemic patients 18.2%. Divorced had a prevalence of 50.0%, five times higher than that of married persons with 10.3% ($p = 0.02$). None of the single participants were found to be seropositive for HCV antibodies. Based on the results of our study, it is clear that the prevalence of serological markers of viral hepatitis C among multitransfused patients is rather worrying. Given the high prevalence of hepatitis C in this high-risk population, it is estimated that preventive measures are needed to reduce this transmission.

Keywords:

Seroprevalence, hepatitis C virus, multitransfused, Blood donors, ELISA.

Introduction

L'hépatite virale C représente de part le monde un problème majeur de santé publique. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), le nombre de porteurs chroniques du virus de l'hépatite C (VHC) est estimé à environ 170 millions, soit 3% de la population mondiale (OMS, 2000).

L'hépatite C est une affection le plus souvent asymptomatique (90% des cas) (Van de Laar et Lopalco, 2008). Le statut sérologique de la majorité des porteurs du virus est méconnu. D'autre part, la chronicité de l'infection peut évoluer sur plusieurs dizaines d'années, entraînant une morbidité sévère allant de la cirrhose au cancer du foie, voire même jusqu'au décès de certaines personnes infectées (Broutin *et al.*, 2006).

Malgré toutes ces mesures qui sont mises en place pour lutter contre l'hépatite C, un risque transfusionnel résiduel persiste. Ce risque constitue un danger parfois mortel pour les patients transfusés, notamment de façon chronique. Il est principalement lié à l'utilisation de sang d'un donneur infecté pendant la période de pré-séroconversion (Renard *et al.*, 2005). Dans le cadre de la surveillance et de la lutte contre la dissémination de l'infection virale due au virus de l'hépatite C, cette étude transversale descriptive a été réalisée sur 202 sujets pendant une période de 2 mois. Le but de ce travail était de déterminer la séoprévalence de l'hépatite C chez les patients polytransfusés de Blida, en utilisant deux échantillonnages, le premier consistait à rechercher la prévalence de l'hépatite C chez les donneurs de sang (considérés comme témoins), et le deuxième consistait à évaluer la séoprévalence de VHC chez une population exposée aux risques majeurs de contaminations, constituée des patients polytransfusés.

I.1.GÉNÉRALITÉS**I.1.1 Anatomie et physiologie de foie****A) Anatomie**

Le foie est l'organe le plus volumineux de l'organisme et le seul capable d'une régénération en masse (Hadjikyetal., 2000). Il se divise en quatre lobes inégaux, le lobe hépatique droit (plus volumineux), le lobe hépatique gauche, et les deux lobes annexes : carré et caudé. La vésicule biliaire est attachée au foie à la limite du lobe carré et du lobe hépatique droit (Figure 01) (Castaing et Mony, 2014).

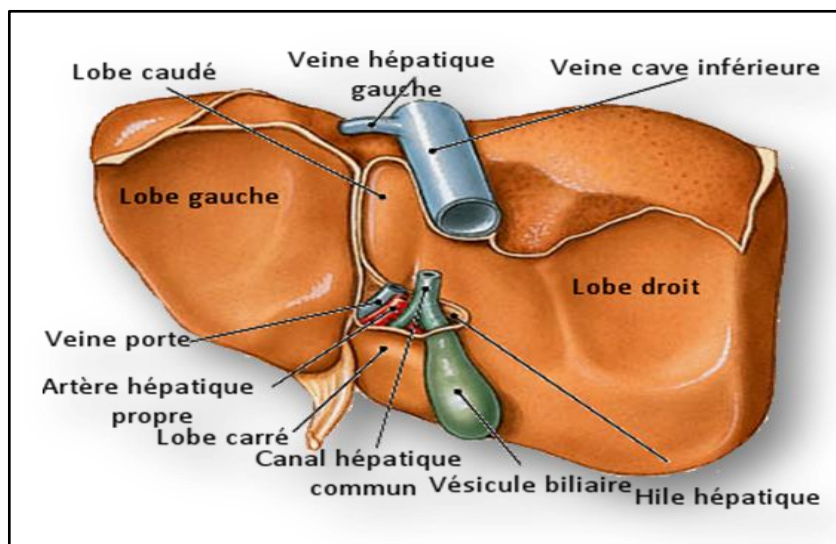


Figure 01 : Anatomie de foie (Castaing et Mony, 2014).

B) Fonctions Hépatiques

Le foie effectue près de 500 fonctions vitales. Il joue un rôle dans la digestion, le métabolisme des sucres et des grasses (Highleyman, 2004).

*** Métabolisme des glucides et lipides**

Il régularise la production, le stockage et la libération des sucres, des graisses et du cholestérol (Highleyman, 2004).

*** Synthèse des protéines sanguines**

A partir des protéines et acides aminés issus de la digestion, les cellules du foie synthétisent la majorité des protéines sanguines : l'albumine, toutes les globines (hémoglobine, globuline...) et les facteurs de la coagulation (Mony et Vallée, 2014).

* Détoxification

Le foie joue un rôle crucial dans la détoxification des substances qui sont nuisibles pour le corps, notamment l'alcool, les drogues, les solvants, les pesticides (**Highleyman, 2004**).

* Production de la bile

Les cellules du foie secrètent de la bile, qui aide à la digestion des matières grasses et à l'absorption des nutriments liposolubles (**Mony et Vallée, 2014**).

C) Physiopathologie

Les maladies du foie affectent des personnes de tout âge. Certaines sont fréquentes et d'autres sont rares (**Moreau, 2010**). La consommation excessive d'alcool, l'infection hépatique Bou C et d'autres facteurs peuvent causer des dommages sérieux au foie. Compte tenu de toutes les fonctions vitales que remplit le foie, il n'est pas étonnant qu'une atteinte hépatique puisse avoir des répercussions sur presque tous les systèmes du corps. Lorsque le foie subit des dommages, les tissus normaux du foie deviennent fibreux (fibrose), gras (stéatose) et cicatrisés (cirrhose) (**Highleyman, 2004**).

I.1.2. Hépatites virales

L'hépatite est une affection inflammatoire du foie, à transmission oro-fécale, parentérale ou sexuelle, caractérisée par une atteinte du parenchyme hépatique pouvant être d'origine infectieuse, toxique (**ADOSEN, 2005**). On distingue des virus à tropisme hépatique dominant, correspondant aux virus des hépatites dites <alphabétique> (HAV, HBV, HCV, HDV, HEV) (**PASQUIER et al., 2013**).

Les virus de l'hépatite B et de l'hépatite C sont la principale cause de mortalité et de morbidité grave liées aux hépatites virales (**OMS, 2009**).

I.2 Virus de l'hépatite C

I.2.1. Historique

Le virus de l'hépatite C (VHC) a été découvert en 1989 par l'équipe de Michael Houghton grâce à des nouvelles méthodes de biologie moléculaire qui ont permis de séquencer le virus à partir du plasma d'un chimpanzé expérimentalement infecté par le sang d'un patient présentant une hépatite post-transfusionnelle non-A non-B (**GUIRLET, 2012**).

Quelques catégories défavorisées, tels que les hémophiles, les patients hémodialysés, les malades transfusés, ont clairement une incidence et une prédominance élevées de l'infection par HCV (**Lavanchy, 2011**).

Aujourd'hui, l'infection par VHC est considérée comme un problème majeur de santé publique à l'échelle mondiale (Benouda, 2009).

I.2.2.Taxonomie

Le VHC appartient à la famille des *Flaviviridae* et au genre *Hépacivirus*. On distingue aujourd'hui 6 génotypes qui sont subdivisés en 80 sous-types (Kim et Mi Chang, 2013).

I.2.3.Structure

Le VHC est un virus enveloppé de 55 à 65 nm de diamètre, très difficilement visualisé en microscopie électronique. Le génome viral, constitué d'une molécule d'ARN simple brinde polarité positivée d'environ 10 kb, est contenu dans une capsidie protéique à symétrie icosaédrique qui est elle-même entourée d'une enveloppe lipidique d'origine cellulaire au sein de laquelle sont ancrées deux glycoprotéines d'enveloppe virales, E1 et E2, organisées en complexes hétérodimériques. L'ensemble ARN génomique-capsidie est appelé nucléocapsidie (Figure 02) (Pawlotsky, 2004).

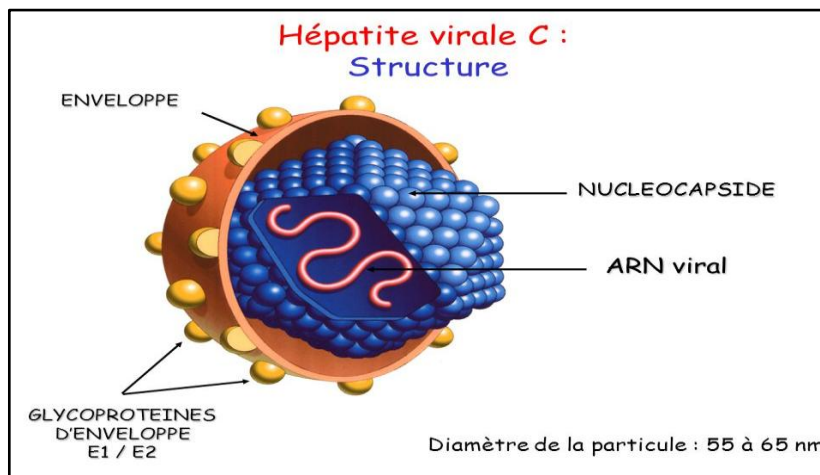


Figure 02 : Structure du VHC (Gordien, 2003).

A) Organisation génomique

Le génome du HCV peut être schématiquement subdivisé en trois régions: deux régions non codantes très conservées aux extrémités 5' et 3' encadrant une région codant les protéines virales (Figure 03) (Van Doorn, 1995).

✓ Région 5' non codante

(5'UTR) en amont de la phase ouverte, comprend 341 nucléotides et contient les séquences les plus conservées, qui jouent un rôle majeur dans la réplication du génome viral et la synthèse des protéines virales, et aussi impliquée dans le processus d'initiation de la traduction. Il a été montré que la région 5'NC possède un site interne d'entrée des ribosomes,

qui permettent la fixation des ribosomes sur l'ARN en région 5' terminale (Mammette, 2002).

✓ Région codant les protéines virales

La région 5'NC est suivie d'un cadre de lecture ouvert débutant par un codon AUG initiateur de la traduction. Il comporte 9024 à 9111 nucléotides qui codent une grande polyprotéine de 3010 à 3033 acides aminés. Cette polyprotéine sera ensuite clivée pendant et après sa traduction par des protéases virales et des protéases cellulaires de l'hôte pour donner au moins 10 protéines virales distinctes, de 5' en 3' : les protéines structurales (protéine de capsid C et glycoprotéines d'enveloppe E1 et E2), une protéine appelée p7 et les protéines fonctionnelles non structurales (NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A et NS5B) (Cahour, 2006).

✓ Région 3' non traduite

(3'UTR) est tripartite. Elle est formée d'une région de séquence et de longueur variable, suivie d'une queue interne poly (U/C) et se termine par une séquence de 98 nucléotides très conservée, nommée région X (Imbert *et al.*, 2004).

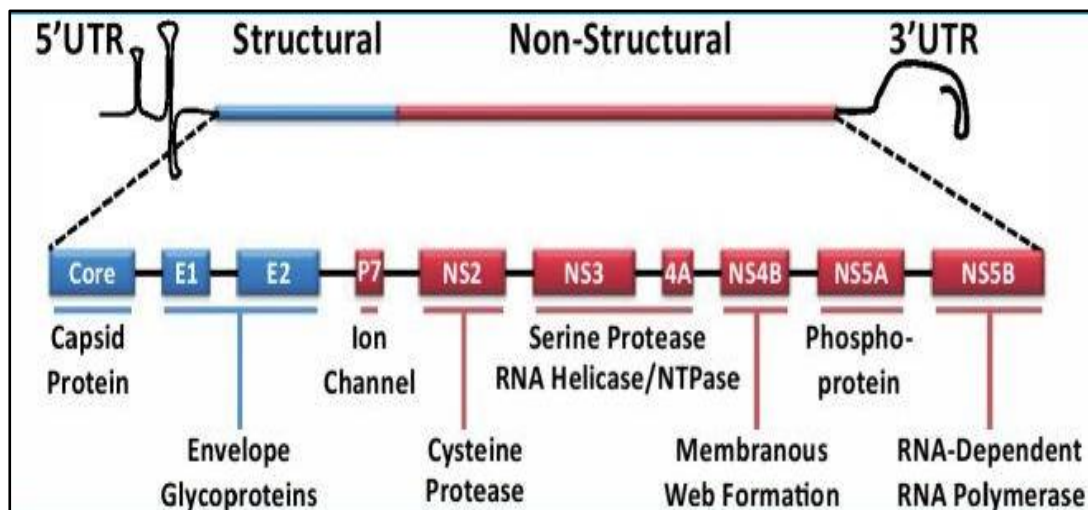


Figure 03: Organisation génomique et protéique du virus de l'hépatite C (Poordad, 2012).

B) Protéines virales

➤ Protéines structurales

• Protéine de capsid

La protéine de capsid est une phosphoprotéine avec des régions très hydrophobes. Elle est issue du clivage de l'extrémité N-terminale de la polyprotéine virale. Elle fixe l'ARN viral, permettant l'encapsidation du génome viral et a une action de régulation de la traduction en s'associant notamment aux sous-unités 60S du ribosome. Elle se fixe aux glycoprotéines de l'enveloppe virale pour l'assemblage des virions (Gordien, 2003).

- **Protéine F**

La protéine F, pour *Frameshift*, sa fonction dans le cycle viral et sa localisation subcellulaire restent à ce jour peu connues (**Soussan et Pendeven., 2010**).

- **Protéines d'enveloppe E1 et E2 :**

Les protéines E1 et E2 sont des constituants majeurs de l'enveloppe virale. Ce sont des glycoprotéines transmembranaires, E2 serait capable de se lier à une boucle extracellulaire du CD81, protéine de la membrane cellulaire de la superfamille des tétraspanines. Cette interaction permettrait l'entrée du virus dans les hépatocytes (**Pawlotsky, 2004**).

- **Protéine p7 :**

La protéine p7 (7 kDa), localisée au niveau de l'extrémité C-terminale de la protéine E2, est une petite protéine très hydrophobe capable in vitro de former des canaux ioniques (**Soussan et Pendeven, 2010**).

➤ **Protéines non structurales du virus :**

- **La protéine NS2**

Est une protéine transmembranaire insérée dans la membrane du réticulum endoplasmique. En association avec la partie amino-terminale de NS3, va permettre l'auto-clivage de la jonction NS2/NS3 (**Durantel et al., 2006**).

- **Protéine NS3**

La protéine NS3 est une protéine hydrophile, bi-fonctionnelle qui possède un domaine protéase permettant la libération des autres protéines non structurales, et un domaine hélicase/nucléotide triphosphatase impliqué dans le mécanisme de réplication (**Pawlotsky, 2004**).

- **Protéine NS4A**

La protéine NS4A est une protéine transmembranaire, elle permet également l'ancrage de NS3 et d'autres protéines du complexe de réplication du VHC aux membranes cellulaires grâce à son domaine hydrophobe et interagit avec la protéine NS5A dont elle régule la phosphorylation (**Durantel et al., 2006**).

- **Protéine NS4B**

La protéine NS4B est une protéine hydrophobe, sa fonction pourrait être de modifier la nature de la membrane du réticulum endoplasmique afin de faciliter la formation du complexe de réplication (**Pawlotsky, 2004**).

- **Protéine NS5A**

La protéine NS5A est une protéine hydrophile, impliquée dans la résistance aux traitements par l'interféron α (**Gordien, 2003**).

- **Protéine NS5B**

La protéine NS5B est un ARN-polymérase ARN-dépendante virale (**Scaramozzino et al., 2002**).

I.2.4 Récepteurs du VHC

Les hépatocytes sont la cible principale du virus, mais l'infection de cellules hématopoïétiques, intestinales et du cerveau a également été observée chez les patients. Les particules virales, libres ou associés à des apolipoprotéines, interagissent en cascade avec de nombreux récepteurs présents à la surface des hépatocytes. Un nombre considérable d'entre eux a déjà été identifié, incluant les glycosaminoglycanes (GAG), le récepteur des lipoprotéines (LDLr), le récepteur cellulaire scavenger classe B site I (SR-BI), la tétraspanine CD81, et plus récemment les protéines de jonctions serrées Claudin-1 (CLDN1) et occludines (OCLN) (**Bosen, 2008**)

I.2.5.Cycle virale

Le cycle répliatif du VHC peut être décrit en cinq étapes (**Figure05**).

a. Attachement et entrée

Les particules virales, libres ou associés à des apolipoprotéines, interagissent en cascade avec de nombreux récepteurs. Le virus est ensuite internalisé dans la cellule par endocytose (dépendante de la clathrine). Puis il fusionne avec la membrane des endosomes (cette fusion membranaire est déclenchée par une baisse de pH dans les endosomes) entraîne la décapsulation et libère le matériel génétique dans le cytoplasme de la cellule hôte (**Figure 04**) (**Boson, 2008**).

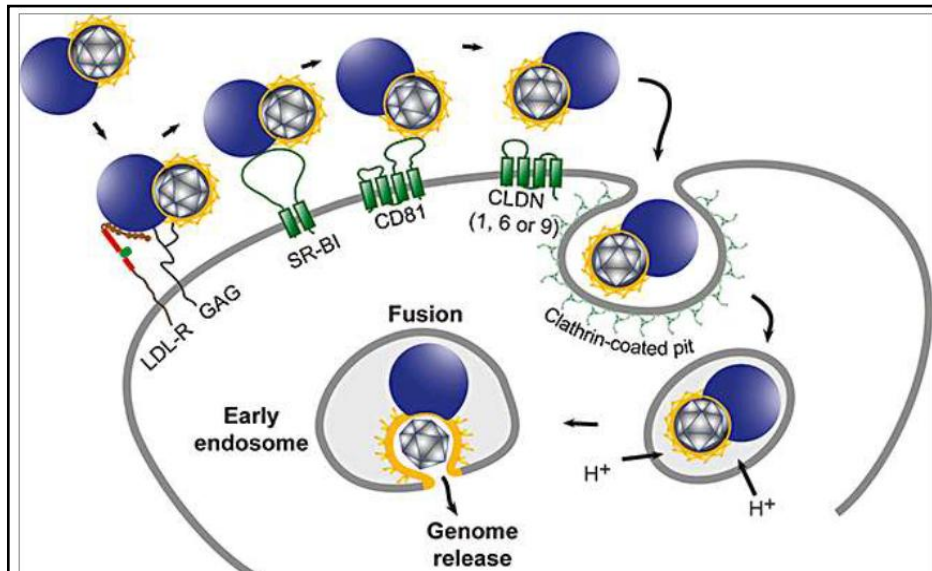


Figure 04 : Étapes précoces du cycle cellulaire du VHC (Dubuisson *et al.*, 2008).

b. Traduction du génome viral

L'ARN à polarité positif est traduit, probablement par des ribosomes associés au RE, en une polyprotéine précurseur virale unique qui permet de produire toutes les protéines virales nécessaires à la réplication du virus (Capside, E1, E2, p7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A et NS5B) (Bartenschlager *et al.*, 2010)

c. Réplication de l'ARN

Le génome du VHC est répliqué au sein des complexes de réplication associés aux membranes. En effet, les protéines non structurales du VHC et l'ARN s'associent à des structures vésiculaires périnucléaires qui dériveraient du RE et qui semblent être le siège de la réplication virale. Ce réarrangement des membranes intracellulaires, appelé « membranous web », est induit par l'expression de NS4B et a été observé dans des biopsies hépatiques de chimpanzé infectés ou dans les cellules infectées *in vitro*. L'ARN polymérase NS5B synthétise tout d'abord un brin d'ARN négatif à partir de l'ARN positif viral. Cet ARN négatif intermédiaire sert ensuite de matrice pour la synthèse de nombreux brins d'ARN positifs. Ces ARN positifs pourront alors être utilisés pour la traduction de nouvelles protéines, pour la synthèse de nouveaux intermédiaires de réplication ou encapsidés dans des particules virales (Bartenschlager *et al.*, 2010).

d. Assemblage

L'association de la protéine de noyau avec des gouttelettes de lipide (LD) est essentielle pour l'assemblage de HCV. L'interaction de noyau avec de l'ARN viral est censée déclencher la formation de nucléocapside. Les protéines structurales et non structurales

synthétisées au cours de ce processus permettent alors l'assemblage de nouvelles particules virales (Costin et Dubuisson, 2010).

e. Libération des nouveaux virions

Les virions ainsi formés bourgeonnent au niveau de ces structures dérivant du réticulum endoplasmique et sont dirigés vers la membrane plasmique puis libérés par exocytose dans le milieu extérieur (Boson, 2008).

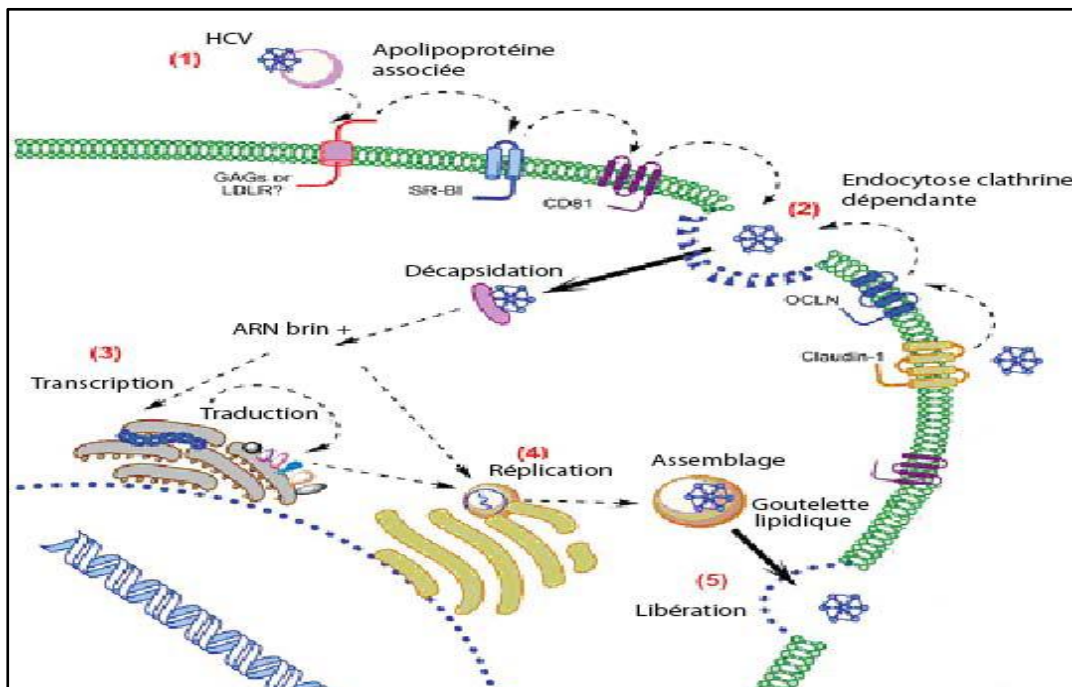


Figure 05 : Étapes du cycle de réplication du VHC (Boonstra *et al.*, 2009).

I.2.6. Variabilité génétique

Le VHC, dont le génome est un ARN monocaténaire de polarité positive, montre une importante diversité génétique, conséquence du défaut d'activité correctrice de l'ARN-polymérase ARN-dépendante (introduction de substitution) et d'une absence d'activité 5'-3'exonucléasique (absence de correction d'erreur)(steinhausen *et al.*, 1992).

Cette variabilité est retrouvée sur la totalité du génome du VHC, mais prédomine au niveau de la protéine d'enveloppe. Le VHC peut être classifié à six génotypes numérotés de 1 à 6, eux – mêmes subdivisés en un grand nombre de sous-types identifiés par des lettres minuscules (environ 80 sous-types). Les génotypes de HCV varient dans les modèles de la répartition géographique et de la réponse thérapeutique (Smith *et al.*, 2014).

➤ Distribution géographique des géotypes

Les géotypes 1, 2 et 3 sont ubiquitaires avec des prévalences variables d'une région à l'autre. Les sous-types 1a et 1b sont majoritairement répandus en Amérique du Nord, au Japon et en Europe. Il en est de même des sous-types 2a et 2b. La répartition des types 4, 5 et 6 apparaît restreinte à certaines régions du globe. Le VHC de type 4 infecte principalement les populations d'Égypte, du Moyen-Orient, d'Afrique du Nord et sub-sahariennes. Le géotype 5 a été localisé en Afrique du Sud. Le géotype 6 circule dans les pays du Sud-Est asiatique (Gaudy et Goudeau, 2005).

I.3. Mode de transmission

La transmission du VHC est exclusivement parentérale, elle se fait par le contact direct ou indirect du sang d'un sujet indemne avec celui d'un sujet infecté. Dans beaucoup de pays en développement, les principaux modes de transmission restent liés à l'usage de matériel d'injection non stérile et à la transfusion de sang ou de produits sanguins non contrôlés (Cacoub *et al.*, 2000).

I.3.1. Transmission parentérale

Généralement, les groupes à haut risque (HRG) sont les personnes exposés au sang ou aux produits de sang comme les intra consommateurs de drogue veineux (IDUs), les hémodialysés, les malades leucémiques et ceux avec la thalassémie et l'hémophilie (Firdaus *et al.*, 2014).

A) Transfusions sanguines

La transfusion de sang ou de produits dérivés du sang a été la première cause reconnue de transmission du VHC et a joué un rôle majeur dans la diffusion de l'infection jusqu'en 1990 (Donahue *et al.*, 1992). Depuis 1999, un test de dépistage obligatoire du VHC, associé à un dosage des transaminases, est fait systématiquement à tout donneur de sang, ce qui réduit considérablement ce risque (Roudot-Thoraval, 2008).

La plupart des pays arabes ont échoué pour accomplir les critères de système moderne de transfusion sanguine. Les différentes études ont montré l'impact de la transfusion sanguine sur le statut de HCV dans ces pays. Les études de Jordanie ont prouvé que l'infection de HCV a été détectée dans 34% de patients qui avaient reçu la transfusion sanguine, comparé seulement à 16% de ceux qui n'ont reçu aucune transfusion (Al-Sheyyabet *et al.*, 2001).

B) Toxicomanie par voie intraveineuse

Dans les pays occidentaux, 30 à 60 % des hépatites C dépistées sont en relation avec un usage de drogue (partage des seringues, de la cuillère, du filtre, du coton). Parmi ces usagers, la prévalence du VHC est de 50 à 80 % (**Moussalli *et al.*, 2007**)

I.3.2. Autres modes de transmission**A) Transmission sexuelle**

La transmission par voie sexuelle semble exister, mais son incidence apparaît faible (moins de 5%). Dans le cas de contamination de partenaires, on peut s'interroger sur un facteur de risque commun au couple (toxicomanie,...) ou sur les risques liés au partage d'objets de toilette contaminés (**Ghosn *et al.*, 2005**)

B) Transmission mère – enfant

Elle est rare (de l'ordre de 3%) chez les femmes non infectées par le virus de l'immunodéficience humaine (HIV). Fréquente (de l'ordre de 20%) chez les femmes enceintes co-infectées par le HBV et HIV (**PASQUIER *et al.*, 2013**).

C) Transmission iatrogène

La transmission nosocomiale a été très fréquente lorsque les injections étaient effectuées avec du matériel mal stérilisé ou à usage multiple (**Desenclos, 2003**).

D) Contamination professionnelle

C'est un mode de transmission mineur du VHC, liée à une blessure accidentelle avec du matériel souillé (chez les Dentiste). Ce risque est estimé entre 3 et 5 % jusqu'à 10 % en cas de charge virale forte du sujet contaminant (**Roudot-Thoraval, 2002**).

I.4. Epidémiologie**I.4.1. Prévalence de l'hépatite C**

L'hépatite virale C est un problème majeur de santé publique avec 150 millions de personnes infectées par le monde (**OMS, 2012**).

On distingue trois zones schématiques de séroprévalence:

- Une zone de basse endémicité avec moins de 0,5% de séroprévalence : pays scandinaves, Australie, Canada, Suisse, Espagne, Portugal, Allemagne et Italie.
- Une zone de prévalence intermédiaire autour de 1% : Europe de l'Ouest et Etats-Unis.
- Une zone de forte endémicité avec une séroprévalence supérieure à 2% : Europe de l'Est, Asie, Afrique et Amérique du Sud (**Soussan *et Pendeven.*, 2010**).

I.4.1.1 Situation dans le monde

-Dans les pays d'Amérique latine et des Caraïbes, on estime qu'entre 7 et 9 millions d'adultes sont positifs pour les anticorps anti-VHC (**Kershenobich et al., 2011**).

-En Europe, 9 millions de personnes sont infectés par le VHC, Chaque année 86 000 personnes meurent de maladies hépatiques liées au VHC (**Emiroglu, 2010**). La prévalence du VHC dans la population générale il est de 0,4 % en Suède, en Allemagne et aux Pays-Bas (**Payne, 2009**).

-La prévalence de l'infection par le virus de l'hépatite C est aussi très élevée dans le Taïwan (4,4 %) et le Viet Nam (2-2,9 %) (**Sievert, 2011**).

-Après L'Égypte et le Pakistan, la Chine se classe au troisième rang des pays qui affichent les taux les plus élevés d'infection chronique au VHC. En 2010, environ 150 000 nouveaux cas de VHC ont été signalés en Chine, près du double du nombre de cas en 2006 (**China Daily, 2011**).

-En Afrique centrale, on situe la séroprévalence globale de cette affection entre 2 et 6 % (**Dokekias, 2003**).

I.4.1.2. Situation Dans le monde Arabe

Le nombre d'individus infectés dans le monde arabe par le VHC est de 25 millions avec un taux moyen de prédominance de 3.5% (**Tableau I**) (**Daw et Dau, 2012**).

Au Yémen, la séroprévalence de VHC chez les sujets transfusés était 80% comparé à 20% chez des personnes n'ayant jamais été transfusés (**Bajubair et al., 2008**). En Libye, une histoire de transfusion sanguine a été rapportée dans 22.7% de ceux avec HCV (**Daw et al., 2002**).

En Algérie, la séroprévalence est de 2.5% dans la population globale (**Rouabhia et al., 2010**).

Tableau I: Séroprévalence de virus de l'hépatite C selon les pays arabes.

Catégories	Prévalence%	Pays
Bas	1–1.9 %	Libye, Tunis, Oman, Arabie Saoudite, Kuwait, Bahreïn, Syrie, Liban
Modéré	2.0–2.9 %	Algérie, Mauritanie, Yémen, Gaza
Haut	3–3.9 %	UAE, Iraq, Soudan
Plus Haut	>4 %	Egypt., Maroc, Qatar, Jordanie

(**Daw et Dau, 2012**).

I.5. Cliniques et évolution de l'hépatite C

L'évolution de l'infection par le VHC est variable. Toutefois, les données épidémiologiques montrent qu'en moyenne 70 % des patients (de 55 % à 90 %) ayant été en contact avec le virus deviendront des porteurs chroniques (**Leone et Rizzetto, 2005**).

L'hépatite C se présente sous différentes stades (**Figure 06**) :

I.5.1. Hépatite aiguë

Il est estimé que le VHC est responsable d'environ 20% des cas d'hépatites aiguës. L'infection est dans la plupart des cas (80 %) asymptomatique, mais chez une minorité de patients (20%), elle est ictérique et dure généralement de 2 à 12 semaines (**Marcellin et al., 2004**).

I.5.2. Hépatite chronique

La persistance de l'ARN viral détectable dans le sérum pendant plus de 6 mois après le début de l'infection traduit le passage à la chronicité. La grande fréquence du passage à la chronicité est liée à la forte variabilité génomique du HCV. La multiplication du virus, entraîne des mutations permanentes qui lui permettant d'échapper à la réponse immunitaire (**Marcellin et al., 2007**).

On peut distinguer trois formes d'hépatite chronique C :

-**L'hépatite chronique avec transaminases normales (10 à 50 %)** : Caractérisé par des transaminases normales en permanence malgré la présence d'une virémie détectable (ARN viral détectable par PCR dans le sérum) (**Broutin et al., 2006**).

-**L'hépatite chronique minime (10 à 40 %)** : Caractérisé par une ARN viral détectable dans le sérum par PCR et des transaminases très modérément élevées, parfois fluctuantes et transitoirement normales. Ce type évolue généralement très lentement et le risque, à long terme, de développer une cirrhose est faible (**Broutin et al., 2006**).

-**L'hépatite chronique modérée ou sévère (50 à 80 %)** : Bien que les patients aient tendance à avoir des transaminases plus élevées que les patients atteints d'hépatite chronique minime, le taux des transaminases n'est pas un facteur pronostique pour un malade donné. La biopsie hépatique est l'examen le plus fiable pour distinguer l'hépatite chronique modérée de l'hépatite chronique minime. Elle montre des lésions plus marquées d'activité et une fibrose plus ou moins extensive (**Broutin et al., 2006**).

I.5.3. Cirrhose et carcinome hépatocellulaire

La cirrhose est le stade majeur du développement de la fibrose hépatique induite par la plupart des maladies chroniques du foie. Elle est définie par l'existence d'un trouble architectural diffus du parenchyme hépatique caractérisé par l'existence d'une fibrose entourant des nodules hépatocytaires dits de régénération (Friedman,2003).

Le carcinome hépatocellulaire est une des tumeurs les plus fréquentes dans le monde qui résulte d'altérations précancéreuses du parenchyme cirrhotique (Friedman, 2003).

Les complications responsables de la morbidité et de la mortalité de l'hépatite C interviennent presque exclusivement au stade de cirrhose. Elle apparaît généralement 20 ou 30 ans après l'infection(Friedman, 2003).

En France, la cirrhose décompensée liés au VHC représente la deuxième cause de transplantation hépatique après la cirrhose alcoolique (Marcellin *et al.*, 2004).

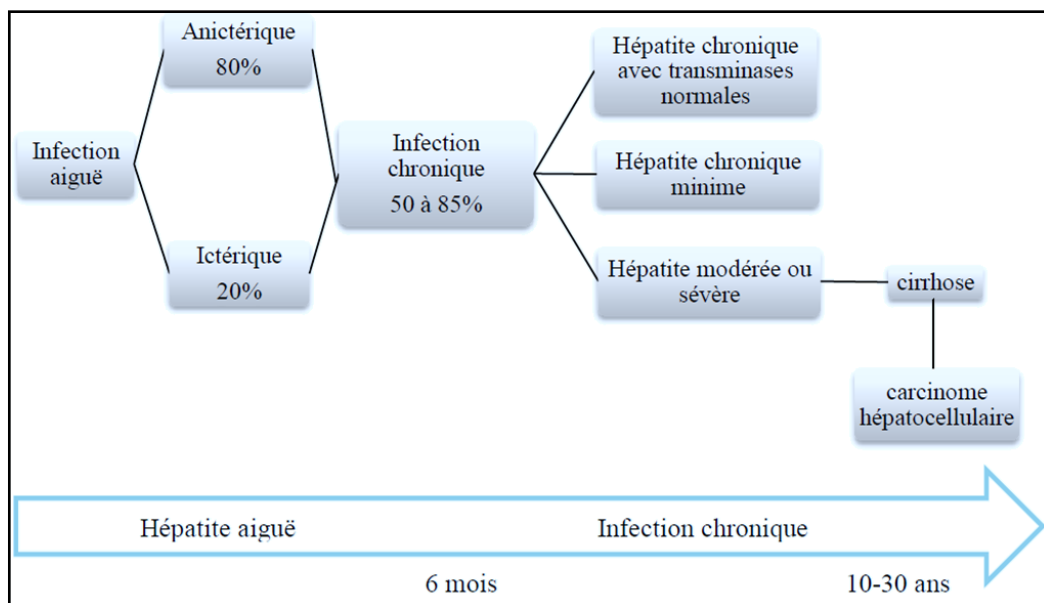


Figure 06 : Évolution naturelle de l'hépatite C (Marcellin *et al.*, 2004).

I.6. Diagnostic Virologique

Le diagnostic des infections par le VHC, comme celui de toute infection virale repose sur deux types de tests : les tests indirects qui mettent en évidence les anticorps dirigés spécifiquement contre le virus (tests sérologiques) et les tests directs qui mettent en évidence les constituants de la particule virale (Tangara, 2006).

I.6.1 Diagnostic indirect

Il repose sur des tests qui utilisent les antigènes viraux permettant la détection spécifique d'anticorps anti-VHC. La détection des anticorps anti-VHC dans le sérum ou le

plasma repose sur l'utilisation de test immuno-enzymatiques de type *enzyme-linked immuno sorbent assay* (Elisa) de troisième génération. Ce test permet la détection d'anticorps dirigés contre un mélange de peptides synthétiques ou de protéines recombinantes correspondant aux protéines du VHC : capsid, NS3, NS4 et NS5 (PASQUIER *et al.*, 2013).

- **Principe d'Elisa**

La technique ELISA s'applique pour l'identification et le dosage des anticorps dans un liquide biologique, qui permet de visualiser une réaction antigène anticorps grâce à une réaction colorée produite par l'action sur un substrat d'une enzyme préalablement fixée à l'anticorps (Magniez, 2008).

- **Les différentes générations d'ELISA**

L'évolution des composants antigéniques et des variantes des tests ELISA permet de distinguer quatre générations :

Les tests ELISA de 1^{ère} génération : Ils reposaient sur l'utilisation de lysats viraux comme antigènes, préparés à partir de cultures virales issues de cellules T humaines, à l'origine de possibles réactions croisées (Weber, 2000).

Les tests ELISA de 2^{ème} génération : Les lysats viraux ont été remplacés par des peptides synthétiques ou des protéines recombinantes, ce qui a permis d'améliorer la sensibilité et la spécificité de ces tests (Brun-Vezinet *et al.*, 2003).

Les tests ELISA de 3^{ème} génération : Ils reposent sur l'utilisation de protéines recombinantes ou synthétiques. Ils détectent toutes les classes d'immunoglobulines (Weber, 2000).

Les tests ELISA de 4^{ème} génération ou tests combinés : ils ont été conçus pour détecter les anticorps anti-VHC et l'antigène de capsid du VHC de façon simultanée, permettant de réduire la fenêtre sérologique lors de la primo-infection (Weber, 2000).

Actuellement, le temps de réalisation d'un test ELISA peut aller de 20 minutes (pour les tests automatisés) jusqu'à 2 heures (Herbein, 2003).

Cette méthode comporte 03 types (Figure 07) :

- ELISA sandwich
- ELISA indirecte
- ELISA compétitive

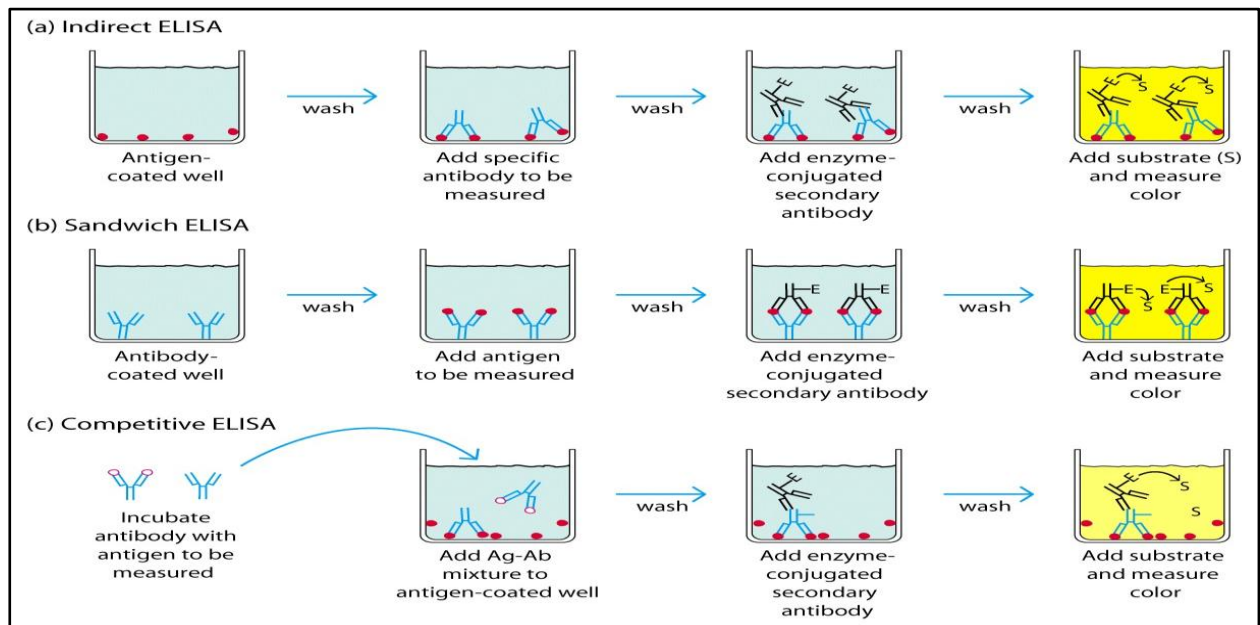


Figure 07 : Différents types de test Elisa (After *et al.*, 2000)

I.6.2. Diagnostic direct

Le diagnostic direct repose sur les techniques de biologie moléculaire permettant la détection d'ARN, la quantification (charge virale) et la caractérisation du génome viral par une technique d'amplification génomique en chaîne par polymérase(PCR) (**Pawlotsky, 2000**).

▪ Principe de PCR

La PCR consiste à réaliser une succession de réactions de réplication, qui permet de dupliquer en grand nombre une séquence d'ADN ou d'ARN connue *in vitro*, à partir d'une faible quantité d'acide nucléique(**Poitras et Houde, 2002**). Pour les fragments d'ARN comme le cas pour le VHC, une étape supplémentaire est nécessaire : la reverse transcription. Cette étape est réalisée à l'aide d'une enzyme ADN polymérase ARN dépendante (Reverse Transcriptase) qui copie le mono brin d'ARN en ADN complémentaire (ADNc) (**Poitras et Houde, 2002**).

I.7. Traitement

La décision d'administrer un traitement à un patient est fondée principalement sur la sévérité de l'atteinte hépatique, les chances de guérison, la présence de contre-indications au traitement et la volonté du patient d'être traité. La détermination du génotype est systématiquement réalisée avant le début du traitement (**Marie, 2012**). Le traitement de référence est constitué par l'association de l'interféron α pégylé avec la ribavirine. Ce traitement vise à l'éradication du virus qui se traduit par une réponse virologique prolongée : ARN VHC indétectable 6 mois après l'arrêt du traitement(**Segondy, 2005**).

La transplantation hépatique est indiquée chez les malades ayant une cirrhose décompensée ou compliquée par un cancer de petite taille sans extension autre que le foie (Fournier et Willems, 2011).

I.8. Prévention

Une meilleure connaissance des mécanismes de transmission du VHC et la disponibilité d'outils virologiques performants permettant aujourd'hui de proposer des stratégies rationnelles de prévention (Zanetti, 2003). Selon l'organisation mondiale de santé (OMS), 2014 il existe deux types de prévention :

I.8.1. Prévention primaire

Il n'existe pas de vaccin contre l'hépatite C. Par conséquent, la prévention de l'infection par le VHC passe par la réduction du risque d'exposition au virus dans les établissements de soins, les populations à haut risque tels que les sujets polytransfusés et les consommateurs de drogues injectables (OMS, 2014).

Les interventions de prévention primaire sont les suivantes:

- Hygiène des mains.
- Manipulation et élimination sans risque des objets tranchants ou piquants.
- Dépistage des dons de sang.
- Formation du personnel de santé.

I.8.2 Prévention secondaire et tertiaire

Si des personnes sont infectées par le virus de l'hépatite C, l'OMS recommande de:

- Les informer des possibilités de soins et de traitement et de les conseiller.
- Les vacciner contre les hépatites A et B pour éviter une co-infection par ces autres virus hépatiques.
- Leur assurer une prise en charge médicale rapide et adaptée, comprenant un traitement antiviral si nécessaire et les surveiller régulièrement pour diagnostiquer rapidement une maladie chronique du foie (OMS, 2014).

L'OMS organise la Journée mondiale contre l'hépatite le 28 juillet de chaque année pour sensibiliser les populations et leur apporter des connaissances au sujet des hépatites virales (OMS, 2014).

II.1. Matériel**II.1.1 Type d'étude**

Cette étude épidémiologique, descriptive et transversale, a été menée sur une période de deux mois, allant du 21 mars au 21 mai 2015. Elle a pour objectif de déterminer la séroprévalence de l'hépatite C chez les sujets polytransfusés et témoins et d'évaluer les facteurs de risque associés.

II.1.2 Echantillons biologiques**II.1.2.1 Populations d'étude**

L'étude a porté sur deux populations :

❖ la première population est composée de 102 sujets polytransfusés, c'est-à-dire de patients ayant subi plus de deux séances transfusionnelles. Les polytransfusés sont recrutés dans le laboratoire d'Établissement Public de Santé de proximité d'Ouled Yaïch de Blida (EPSP) (Berzali et 19 juin) pour les groupes des hémodialysés et les femmes en cours de grossesse à haut risque et le laboratoire d'hématologie du CHU de Frantz Fanon pour les malades atteints de β thalassémie et de leucémie.

❖ La seconde population est constituée de 100 sujets donneurs de sang servant de témoins (non atteints d'hépatite virale) non transfusés. Les témoins sont recrutés dans le Centre de Transfusion Sanguin de BLIDA.

II.1.2.2 Critères d'inclusion et d'exclusion

❖ **Critères d'inclusion** : sont concernées par cette étude :

☞ Les personnes âgées de 18 ans et plus, à sérologie anti-VHC inconnue.

☞ Les patients polytransfusés : avoir reçu au moins deux transfusions sanguines documentées :

☞ Patients porteurs de la Leucémie.

☞ Les sujets hémodialysés.

☞ Patients porteurs de la Béta thalassémie.

☞ Les femmes en cours de grossesses à haut risque.

☞ Sujets témoins n'ayant jamais reçu de sang par transfusion.

❖ **Critères d'exclusion** : sont exclues de l'étude :

☞ Les personnes de moins de 18 ans

☞ Sujets transfusés une seule fois

☞ les personnes déjà connues porteuses de ce virus.

II.1.3 Matériel non biologique

L'ensemble du matériel non biologique utilisé est présenté dans l'annexe II.

II.2 Méthodes

II.2.1 Prélèvement sanguin

Pour chaque sujet, cinq millilitres de sang ont été prélevés par ponction veineuse. Les échantillons sanguins sont prélevés dans des tubes à hémolyse, secs, stériles et rapidement centrifugés (à 3000 tours/min) pendant 10 minutes, en vue d'obtenir des sérums conservés à -8°C . Ils sont examinés dans les 48 heures, par technique ELISA indirecte de troisième génération.

II.2.2 Dépistage du VHC

Il s'agit de rechercher la présence des anticorps anti-VHC dans le sérum. La technique utilisée est une technique immunoenzymatique indirecte de type ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) de 3^{ème} génération. On a utilisé le kit HUMANHCV(GERMANY).

II.2.2.1 Principe du test ELISA indirecte :

Il s'agit d'une méthode immuno-enzymatique, les anticorps anti-VHC contenus dans le sérum se lient aux antigènes de VHC préalablement fixés sur une phase solide. Puis, cette réaction antigène - anticorps est révélée par un système enzymatique qui comprend un second anticorps couplé à une enzyme (le conjugué) qui hydrolyse le substrat ajouté à la réaction et qui se traduit par l'apparition d'une coloration dont l'intensité est fonction de la quantité d'anticorps présent dans le sérum (**Figure 08**). L'interprétation des résultats est basée sur des critères strictement supérieurs ou inférieurs à la valeur seuil (**vs = MNC + 0,100**).

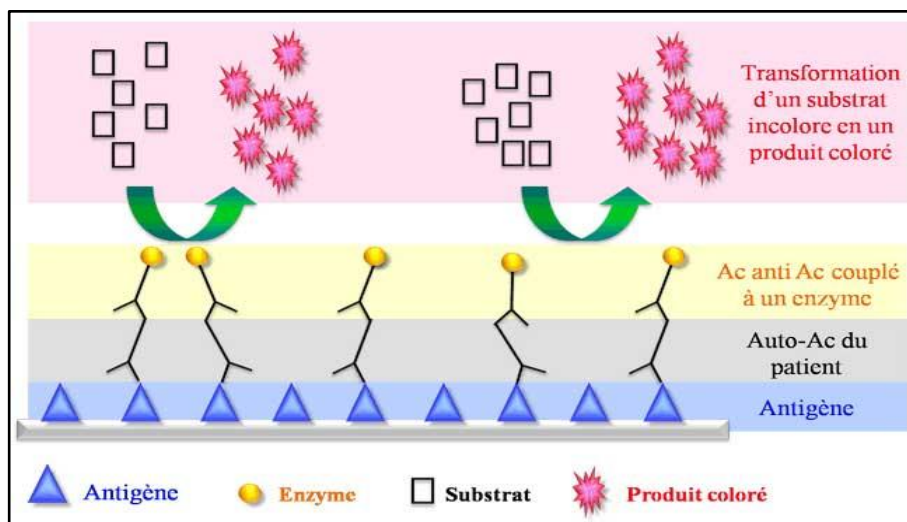


Figure 08 : Principe du test ELISA indirecte (After *et al.*, 2000)

II.2.2.2 Description du Kit

❖ Réactifs prêts à l'emploi

- ↳ La micro plaque.
- ↳ Le control négatif (CN).
- ↳ Le control positif (CP).

↳ Le substrat A (SA).

- ↳ Le substrat B (SB).
- ↳ La solution d'arrêt (STOP).
- ↳ Les films adhésifs.

❖ Réactifs à reconstituer

- ↳ Solution de lavage (20×) (WASH)
- ↳ Diluant du conjugué (C-DIL)
- ↳ Conjugué anti-VHC (CON)

La composition de chaque réactif de coffret est citée dans l'annexe III.

II.2.2.3 Mode opératoire

Il comprend les étapes suivantes :

1-Etablir soigneusement le plan de distribution et d'identification des échantillons ou schéma de plaque.

2- Préparer la solution de lavage.

3- Sortir le cadre support et les barrettes de l'emballage protecteur. Durant le test, les barrettes des puits restent sur le support et peuvent être identifiées sur le rebord.

4-Distribution directe, sans pré-lavage de la plaque, de :

- 100 µl de sérum dans chaque cupule.
- 100 µl de contrôle négatif en C1, D1.
- 100 µl de contrôle positif en E1, F1.

5- Couvrir les barrettes avec une feuille adhésive en appuyant bien sur toute la surface pour assurer l'étanchéité.

6-Incuber la micro plaque dans un incubateur sec pendant 60minutes à 37 °C.

7-Retirer la feuille adhésive. Et effectuer un lavage de 05 fois



Figure 09 :Plaque ELISA pour anti-HCV

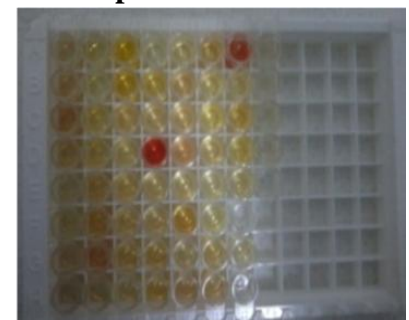


Figure 10 : Distribution de sérum, PC, NC



Figure 11 : Lavage 5

par la solution de lavage.

8-Distribuer 100 µl de solution de conjugué préparée dans toutes les cupules.

9-Recouvrir la microplaque par film adhésif et incuber pendant 30 mn à 37°C.

10-Répéter le lavage 5 fois par la solution de lavage.

11-Distribuer 100 µl de solution de substrat préparée dans toutes les cupules (à l'obscurité).

12-Recouvrir par un film adhésif et incuber pendant 15 mn à 37°C.

13-Ajouter 100 µl de solution d'arrêt dans chaque cupule.

14-Lire la densité optique (DO) à la longueur d'onde 420 nm.

II.2.2.4 Calcul et interprétation des résultats

La présence ou l'absence des Ac Anti-VHC est déterminée en comparant pour chaque échantillon l'absorbance enregistrée à celle de la valeur seuil (VS) calculée.

-Chaque contrôle négatif (NC) doit être inférieur à 0,100.

-Chaque contrôle positif (PC) doit être supérieur à 0,800.

▪ **Calcul de la moyenne du contrôle négatif (MNC) :**

MNC est la moyenne de la DO des 2 contrôles négatifs

$$MNC = \frac{NC_1 + NC_2}{2}$$

▪ **Calcul de la valeur seuil (VS)**

La VS est calculée selon la formule suivante:

$$\text{Valeur seuil (vs)} = MNC + 0,100$$

▪ **Interprétation des résultats**

Les échantillons dont la densité optique (DO) est:

❖ inférieure à la VS: sont considérés comme négatifs.

❖ supérieure ou égale à la VS : le test doit se refaire deux ou trois fois. Après répétitions du test, si l'absorbance est inférieure à la VS, le résultat initial est non reproductible et l'échantillon est déclaré négatif, si l'absorbance est toujours supérieure ou égale à la VS, l'échantillon est déclaré positif.

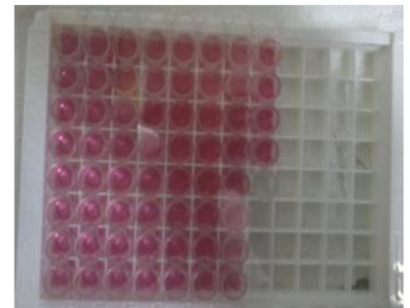


Figure 12 : Distribution de conjugué

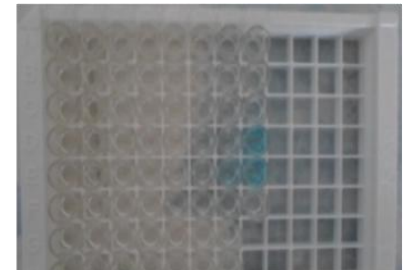


Figure 13 : Distribution de substrat

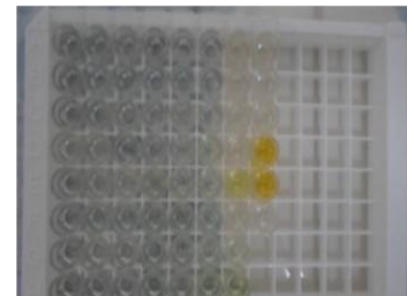


Figure 14 : Distribution de solution stop



Figure 15 : Lire la Densité Optique

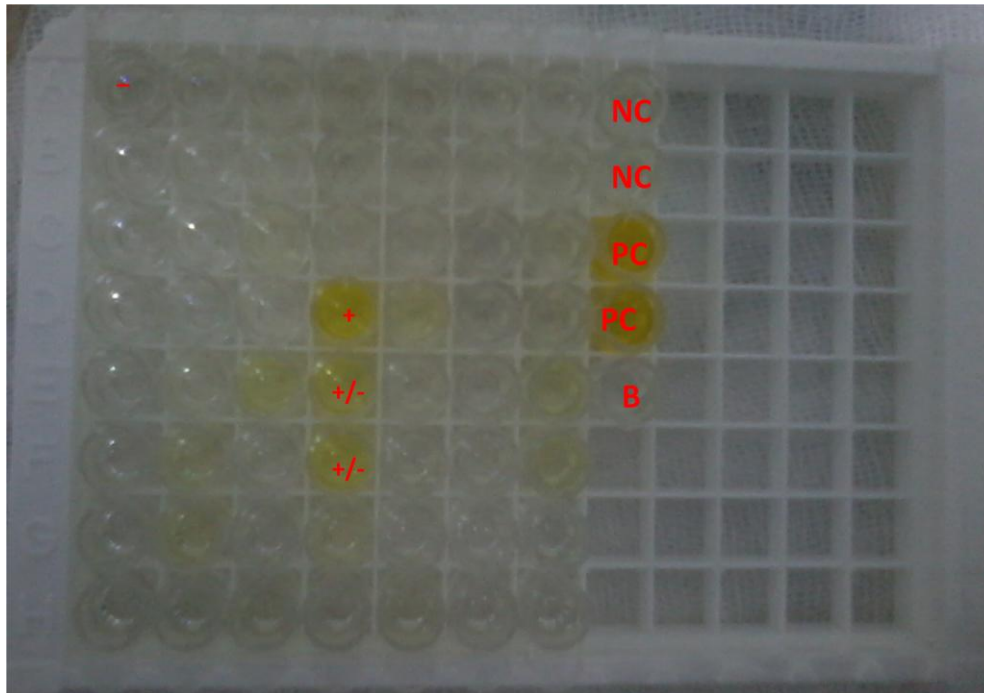


Figure 16: Microplaques vues du haut après la lecture de Densité Optique

+ : Résultat HCV positif - : Résultat HCV négatif

+/- : Résultat HCV douteux **PC** : contrôle positif

NC : contrôle négatif **B** : Blanc

II.3 Collecte et analyses statistiques des données

Les données ont été recueillies sur une fiche d'enquête individuelle comportant les paramètres socio démographiques (âge, sexe....)et les antécédents médicaux (Annexe III).

La saisie et l'analyse statistique des données ont été réalisées avec le logiciel SPSS (version 17.0, Chicago, USA). Les variables qualitatives ont été décrites par leurs effectifs et pourcentages. L'âge des sujets a été décrit par la moyenne et la déviation standard.

Le test de khi2 (X^2) a été utilisé pour la comparaison des proportions. La valeur $P < 0,05$ a été considérée comme seuil de significativité statistique.

III. Résultats

III.1. Caractéristiques socio-démographiques

III.1.1 Caractéristiques socio-démographiques chez les deux populations d'études

Le **Tableau II** représente les principales caractéristiques socio-démographiques des deux populations examinées. La population témoin était constituée de 90 personnes de sexe masculin (90%) et 10 personnes de sexe féminin (10%) et avec un sexe ratio homme/femme était de 9 par contre la population cible était constituée de 64 personnes de sexe féminin (62.7%) et 38 personnes de sexe masculin (37.3%). Le sexe ratio homme/femme était de 0.59. Les donneurs de sang de cette étude étaient âgés de 19 à 60 ans. Les personnes âgées de 18 à 30 ans étaient les plus représentées avec 43 %. La moyenne d'âge était de 33.5 ± 11.3 ans. Les sujets polytransfusés étaient âgés de 18 à 92 ans. La moyenne d'âge était de 49.2 ± 18.2 ans. Les personnes âgées de 40 à 50 ans étaient les plus représentées avec 20.6%. La population étudiée était majoritairement constituée de patients hémodialysés (63.7%). Les femmes enceintes constituaient 19.6%. 10.8% des polytransfusés étaient atteints de bêta-thalassémie et 5.9% avaient la leucémie.

Tableau II : Caractéristiques sociodémographiques des deux populations

Caractéristique	Témoin N (%)	Polytransfusés N(%)
Sexe:		
Femme	10 (10%)	64 (62.7%)
Homme	90 (90%)	38 (37.3%)
Âge (ans)		
[18-30[43 (43%)	16 (15.7%)
[30-40[25 (25%)	18 (17.6%)
[40-50[22 (22%)	21 (20.6%)
[50-60]	10 (10%)	12 (11.8%)
[60-70[20 (19.6%)
≥ 70		15 (14.7%)
Âge en années, moyenne ±SD	33.5 ± 11.3 / 49.2 ± 18.2	
Statut matrimonial		
Célibataire	34(34%)	11 (10.8%)
Marié	61(61%)	87 (85.3%)

Divorcé	5(5%)	4 (3.9%)
Profession		
Fonctionnaire	84(84%)	46 (45.1%)
Sans emploi	15(15%)	37 (36.3%)
Retraité	1(1%)	19 (18.6%)
Type de pathologie		
Hémodialyse		65 (63.7%)
Leucémie		6 (5.9%)
Béta-thalassémie		11 (10.8%)
Grossesse à haut risqué		20 (19.6%)

III.2 Prévalence des anticorps anti-HCV

La séroprévalence globale des anticorps anti-HCV dans les deux groupes est de 5,9 %, soit 12 patients sur 202. Au sein du groupe des polytransfusés, cette prévalence s'établit à 10,8 %, contre 1,0 % au sein du groupe témoin **Figure (17-18)**. La prévalence des anticorps anti-HCV dans la population cible est significativement 10 fois plus élevée que chez les donneurs de sang (10.8% vs 1.0%, p = 0.003).

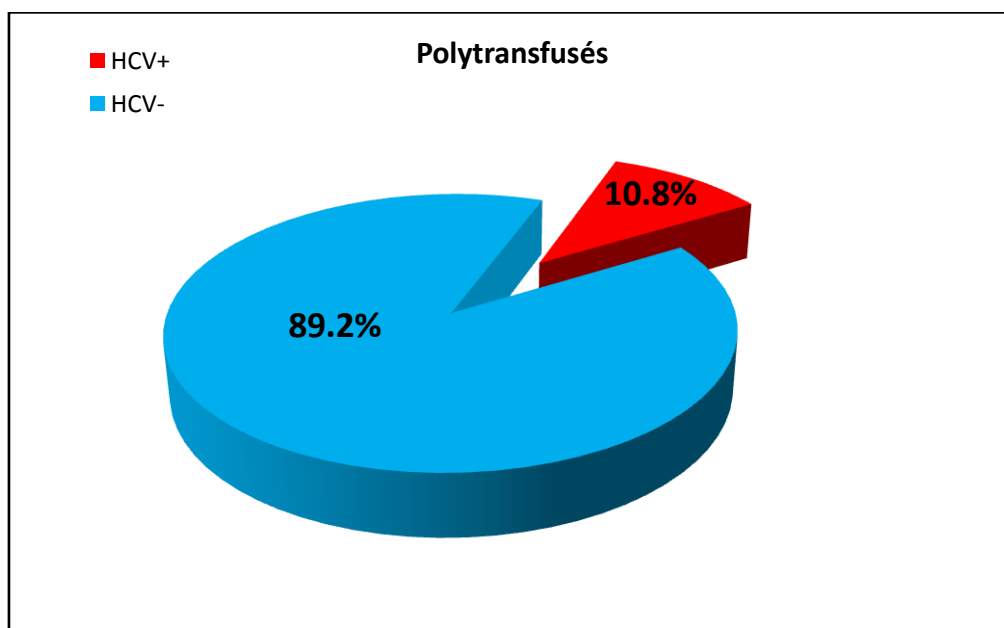


Figure17 : Séroprévalence du HCV chez les polytransfusés

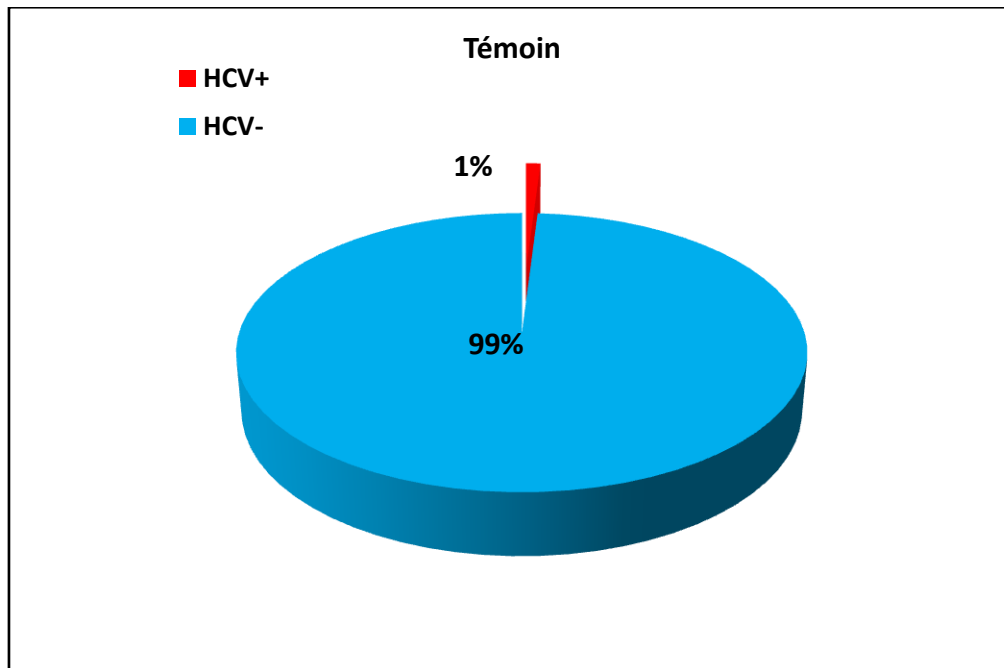


Figure18 : Séroprévalence du HCV chez les témoins

L'association entre certaines caractéristiques sociodémographiques des sujets polytransfusés et la sérologie VHC a été déterminée.

III.3 Séroprévalence des anticorps anti-HCV chez les patients polytransfusés selon le sexe

La prévalence dans la population masculine était 2 fois plus élevée que chez les femmes avec 15.8% contre 7.8%, mais cette différence n'était pas statistiquement significative ($p = 0.2$)

Figure 19.

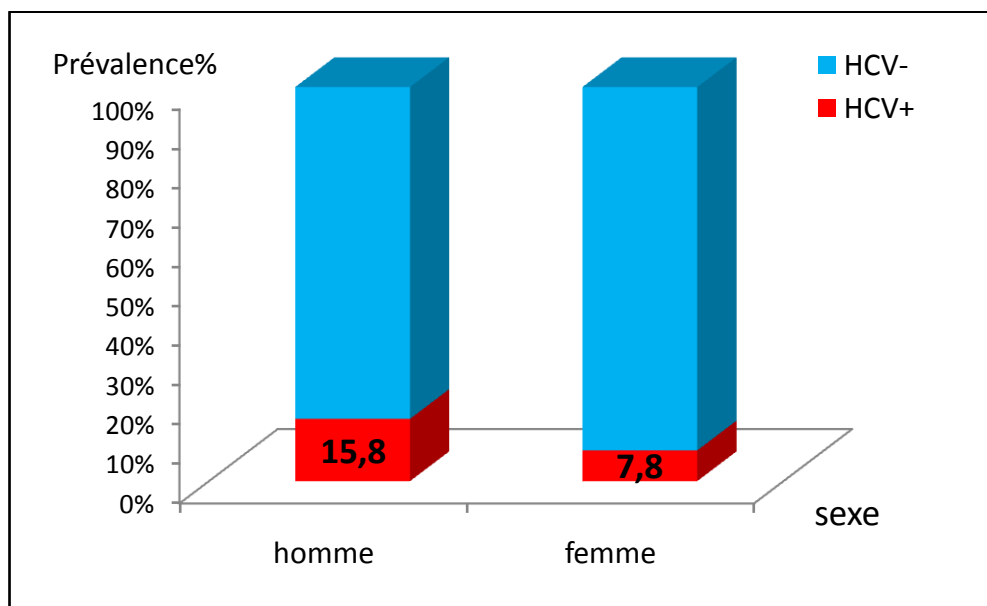


Figure19 : Séroprévalence du HCV selon le sexe chez les polytransfusés.

III.4 Séroprévalence du VHC en fonction de l'âge chez les patients polytransfusés

La prévalence la plus élevée était celle retrouvée dans le groupe des personnes âgées de 40 à 50 ans avec 19.0%. Elle était trois fois plus élevée que celle des personnes âgées de 30 à 40 ans. La plus faible prévalence était celle retrouvée au sein des personnes âgées de 18 à 30 ans avec 0.0% **Figure20.**

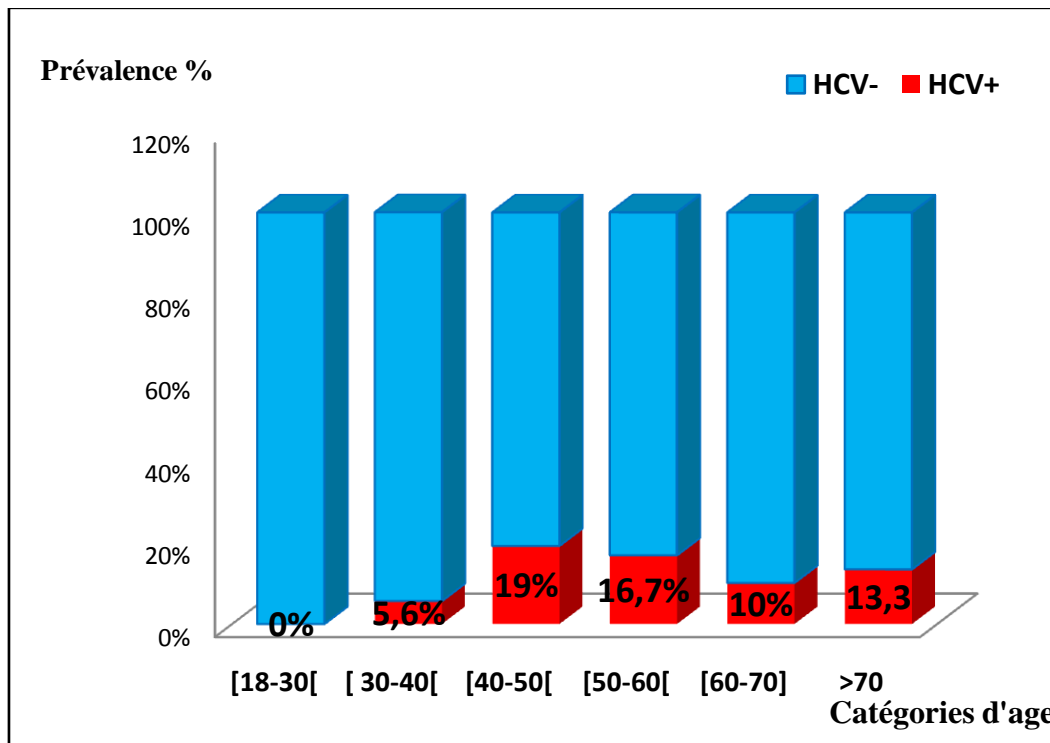


Figure 20 : Séroprévalence du VHC selon les tranches d'âge.

III.5 Prévalence des anticorps anti-HCV selon la pathologie

Selon la pathologie, cette étude démontre une séroprévalence élevée sur les sérums prélevés chez des patients atteints d'hémopathie. Les patients atteints de leucémie ont une prévalence de 33,3 %, suivis des patients bêta-thalassémiques 18.2 % **Figure21.**

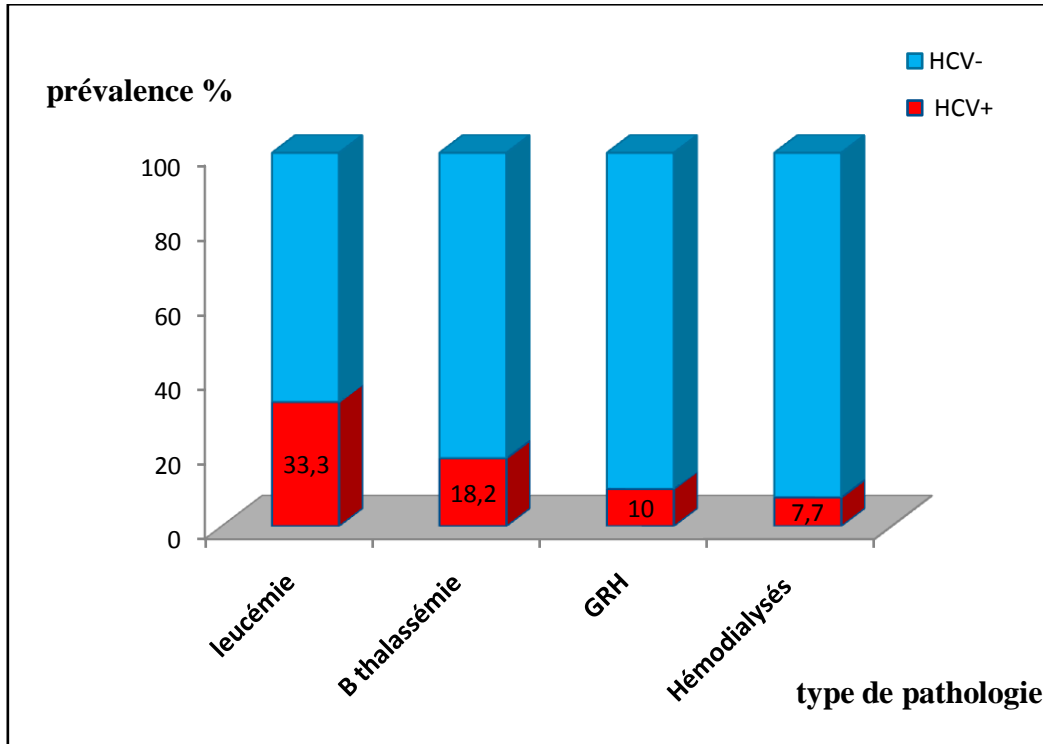


Figure 21 : Séroprévalence du VHC selon le type de pathologie.

III.6 Séroprévalence des anticorps anti-HCV selon le statut matrimonial

Les divorcés avaient une prévalence de 50.0%, cinq fois plus élevée que celle des personnes mariées avec 10.3% ($p = 0.02$). Elle était nulle chez les célibataires **Figure 22**.

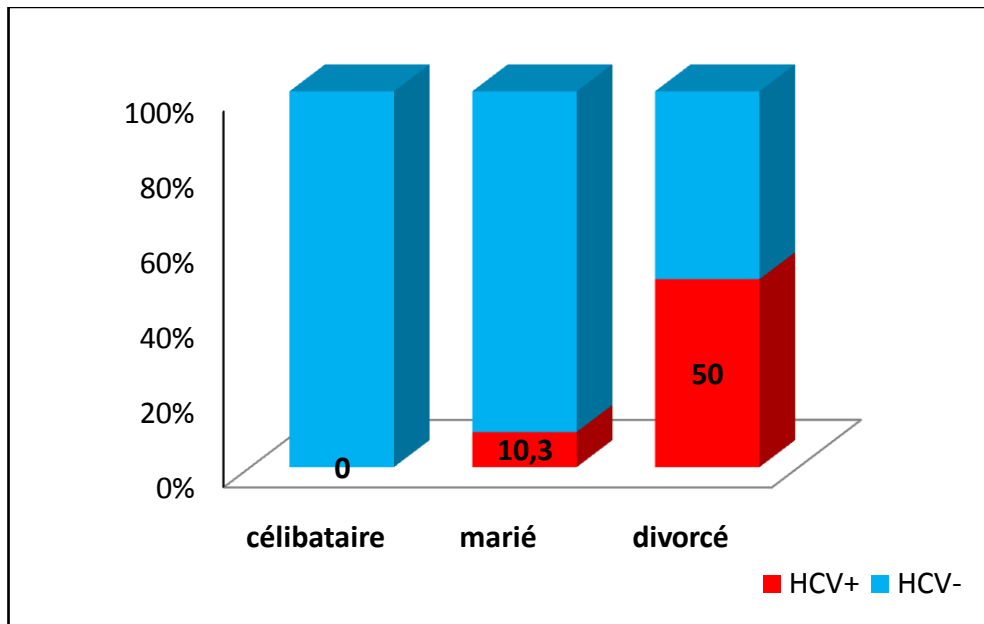


Figure 22 : Séroprévalence du VHC selon le statut matrimonial.

III.2. Discussion

Cette étude avait pour objectif de déterminer la séroprévalence de l'infection par le VHC chez les polytransfusés et témoins dans une perspective de renforcer la sécurité transfusionnelle. Pour cela, nous avons effectué cette étude qui comporte deux populations, 100 donneurs de sang ont été recensés au CTS et 102 malades polytransfusés.

La notion de polytransfusion concerne tout patient ayant subi plus de deux séances transfusionnelles. Il faut noter que la majorité de nos patients ont au cours de l'histoire naturelle de leur maladie développé des anémies à répétition, nécessitant l'apport de sang total et/ou des concentrés de globules rouges.

En ce qui concerne le dépistage des infections par le VHC, il s'effectue par des techniques immuno-enzymatiques qui consistent à rechercher dans le sérum la présence de l'anticorps anti-VHC. Le test ELISA de 3^{ème} génération est très sensible et très spécifique, la spécificité est de l'ordre de 99% et la sensibilité chez des patients porteurs du virus C, est en moyenne de 98%.

III.2.1. Caractéristiques socio-démographiques**➤ Répartition des donneurs selon le sexe**

Il y a eu plus d'hommes (90%) que de femmes (10%) avec un sexe ratio de 9 en faveur des hommes. Les donneurs étaient en majorité des hommes comme décrit par plusieurs auteurs. En effet, **Kiemtoré (1999)**, **Tembely (2002)** et **Guindo(2003)** avaient obtenu les sexes ratio respectifs de 5, 8.7 et 6.81 au CNTS de Bamako. Les obstacles au don de sang sont également plus nombreux chez les femmes (les femmes en menstruation, les femmes enceintes ou allaitantes).

➤ Répartition des sujets polytransfusés selon le sexe

Dans l'ensemble, le nombre des femmes (62,7%) était plus important que celle des hommes (37,3%), avec un sexe ratio F/H de 1.68. la prédominance féminine est liée à la présence de groupe des femmes enceinte et aussi dans les hémodialysés. Cette prépondérance féminine est aussi trouvée dans une étude fait par **Elira Dokekiaset al.(2002)**, ils ont trouvés sur 132 malades polytransfusés : (54.54%) femme et (45.45%) homme.

➤ Répartition des donneurs selon les tranches d'âge

Les patients étaient âgés de 18 à 60 ans avec un âge moyen de 33.51 ans. La fréquence était plus élevée dans la classe d'âge 18-30 ans (43%).Ceci indique que la majorité des donneurs de sang sont des jeunes.

Cette fréquence est en accord avec l'étude de **Sarro (2002)** qui a trouvé que les donneurs de sang sont majoritairement âgés de 18 à 39 ans. Ceci aussi se rapproche des résultats de **TANGARA(2004)** et **TRAORE(2005)** qui ont respectivement trouvé à BAMAKO que les donneurs de sang âgés de 18-25 ans représentaient 72 % et 75 %.

➤ **Répartition des sujets polytransfusés selon les tranches d'âge**

Dans les sujets polytransfusés, le moyen d'âge était de 49.22 ans, la tranche d'âge de 40 à 50 ans représentait la fréquence la plus élevée (20.6 %) que celles des autres classes. Cela indique que la majorité de la population étudiée sont âgés. Ceci pourrait être dû au fait que la plupart de la personne âgés sont avec le temps des sujets à risque en raison des multiples modes de transmission que les jeunes.

➤ **Répartition des deux populations selon le statut matrimonial**

La quasi-totalité de notre population d'étude était Mariée que ce soit pour les donneurs (61%) au bien chez les polytransfusés (85.3%). les donneurs célibataire représentaient 34% et 10.8% pour les polytransfusés. La plupart de nos sujets sont en activité, 45.1% pour les polytransfusés et 84% pour les donneurs donc les sujets en activité (les infirmières, les paramédicaux...) sont les plus exposés au risque d'infection. Dans les deux groupes les femmes sans activité sont majoritaires (91.9%) chez les polytransfusés et 100% chez les donneurs.

III.2.2. Séroprévalence des anticorps anti-HCV

➤ **Séroprévalence de HCV chez les deux populations**

Nous avons voulu savoir si un sujet polytransfusé était plus ou moins exposé à l'infection par le VHC que celui de donneurs. C'est pourquoi nous avons comparé les séroprévalences entre les 2 populations.

La transmission d'agents infectieux a toujours été une préoccupation majeure en matière de transfusion. Ce risque de transmission se pose avec plus d'acuité chez les polytransfusés. Notre travail confirme ce risque, puisque nous avons trouvé une prévalence significativement plus élevée chez les polytransfusés 10,78% soit 11 patients sur 102 par rapport au groupe témoin 1%. Ces résultats sont comparables avec l'étude de **Hannachi et al. (2011)** qui a signalé que la séroprévalence de HCV dans le groupe polytransfusé était de 4,7% contre 0,6% chez les donneurs. Aussi, **Elira Dokekias (2003)** a trouvé une séroprévalence de 19,7% et 7,5% chez les polytransfusés et les témoins respectivement. Plusieurs facteurs peuvent expliquer ces fortes prévalences chez les polytransfusés, parmi lesquels : le grand nombre de transfusions reçues, le risque d'infection nosocomiale et une

absence de détection du virus par les techniques de dépistage sérologique fiables (**Dodd et al., 2009**).

➤ **Séroprévalence selon le sexe**

La séroprévalence de VHC chez les hommes polytransfusés a été trouvée plus élevée (15.8 %) que celle des femmes (7.8 %). Ces taux se situent au-delà de l'intervalle de 1.1% à 0 pour la population des donneurs de sang. Ces résultats sont en accord avec ceux d'**Elira Dokekias (2003)** qui a trouvé au sein du groupe des polytransfusés une prévalence de 13.0% chez les deux sexes contre 4.0% chez les hommes au sein du groupe témoin. **Dembélé (1999)** a aussi trouvé une séroprévalence de 6,52% chez les hommes contre 3,34% chez les femmes au CNTS de Bamako.

La différence entre les deux sexes n'est pas statistiquement significative ($p=0.2$). Ceci indique que le sexe n'était pas un facteur de risque de l'infection par le VHC dans notre étude.

➤ **Séroprévalence selon les tranches d'âge**

La tranche d'âge de 40 à 50ans était la plus représentée avec un taux de participation de 20.6% ; elle avait aussi la séroprévalence la plus élevée 19.0% de HCV.

Elira Dokekias (2003) avaient obtenu la séroprévalence la plus élevée (21.7%) dans la tranche d'âge [21-30]. Cela est expliqué par le fait que la majorité de son population sont des enfants par contre nos patients sont des sujets âgés plus de 18 ans. La prévalence de l'hépatite C croît avec l'âge en raison de multiples modes de contamination et les maladies qui peuvent apparaître avec l'âge (**Elira-Dokekias et al., 2003**).

➤ **Séroprévalence selon le statut matrimonial**

La sérologie de HCV chez les patients divorcés est de 50%. Cela peut s'expliquer par le faible échantillonnage des personnes divorcées dans notre étude ($n=4$). Alors que les sujets mariés ont une séroprévalence de 10,3%, cela représente un risque pour le couple et même pour les enfants d'où la nécessité de dépister tous les membres de l'entourage familial des personnes VHC séropositives.

➤ **Séroprévalence selon le type de pathologie**

Selon la pathologie, cette étude démontre une séroprévalence élevée sur les sérums prélevés chez des patients leucémiques (33.3%), ceci est lié au nombre limité de l'échantillon des malades leucémiques ($n=6$). Les β thalassémiques ont une prévalence de 18.2%. Ces résultats sont comparables avec ceux d'**Omar et al (2011)** qui ont trouvé une séroprévalence de 51,7% chez 90 malades β thalassémiques. Les autres sérums examinés parmi les polytransfusés sont issus de Grossesse à haut risque (10%), cela constitue un risque pour le

foetus. Les hémodialysés avaient une prévalence de 7.7%. Au Maroc, **Damoune(2012)** avait obtenu une séroprévalence de 53.1% chez 81 hémodialysés. Cette prévalence semble être liée à l'ancienneté et le nombre de la transfusion et aussi liée à d'autres modes de contamination comme la transmission nosocomiale.

Perspectives

Au terme de notre étude nous formulons les perspectives suivantes :

- Vu le faible effectif de notre population et de la courte durée de la présente étude, nous suggérons la conduite d'une étude de plus grande envergure concernant les polytransfusés à l'échelle nationale pour confirmer nos résultats.

- Doter les laboratoires régionaux de matériels de réactifs et le personnel pour le dépistage de l'hépatite C.

- L'amélioration de la qualité du dépistage du VHC par l'introduction d'une technique plus sensible comme celle de la PCR (Polymérase Chain Réaction).

- Etablir un programme de campagnes d'information et de sensibilisation sur l'hépatite C chez les polytransfusés.

- Poursuivre cette étude par des analyses plus approfondies chez les sujets co-infectés (VIH/HCV, HCV/HVB....).

Enfin, il nous semble important de mettre sur pied une base de données nationale pour suivre les recherches sur séroprévalence de l'hépatite C, notamment sur le mode de transmission sanguin chez les patients polytransfusés.

Conclusion

L'infection par le virus de l'hépatite C pose un problème de santé publique majeur. Environ 75% des patients infectés sont susceptibles de développer une hépatite chronique avec le risque d'évolution vers une cirrhose et un hépatocarcinome cellulaire « cancer du foie» (Mauss *et al.*, 2011).

Notre travail a été réalisé au niveau de la ville de Blida afin de déterminer la séroprévalence de l'hépatite C chez 102 sujets polytransfusés âgés de plus de 18 ans et 100 sujets donneurs de sang servant de témoins. Cette étude a conduit aux résultats suivant:

- La séroprévalence globale des anticorps anti-HCV dans les deux groupes est de 5,9 %, soit 12 patients sur 202.
- La séroprévalence des polytransfusés était de 10.8%, 10 fois plus élevée que celle de la population des donneurs de sang (1%).
- La prévalence dans la population masculine était 2 fois plus élevée que chez les femmes avec 15.8% contre 7.8%.
- La prévalence la plus élevée de HVC était celle retrouvée dans le groupe des personnes âgées de 40 à 50 ans avec 19.0%.
- Selon la pathologie, cette étude démontre une séroprévalence élevée sur les sérums prélevés chez des patients atteints d'hémopathie. Les patients atteints de leucémie ont une prévalence de 33,3 %, suivis des patients *bêta*-thalassémiques 18.2 %

D'après les résultats de notre étude, il apparaît clairement que la prévalence de marqueur sérologique de l'hépatite virale C est assez préoccupante. Il s'agit d'une maladie potentiellement transmissible par la transfusion sanguine due principalement à un haut risque qui est lié à l'utilisation de sang d'un donneur infecté pendant la période silencieuse.

Vu la haute prévalence de l'hépatite C dans cette population à haut risque, on estime que des mesures préventives sont nécessaires pour limiter cette transmission telles que la sélection des donneurs de sang, le respect des normes d'hygiène et de disposer de matériels dits de sécurité.

Espérons que l'effort actuel pour la lutte contre l'hépatite C contribuera également au contrôle des sujets polytransfusés dans les pays en développement.

Références Bibliographiques

Al- Sheyyab M., Batiha A. et El-Khateeb M., 2001. The prevalence of hepatitis B, hepatitis C and human immune deficiency virus markers in multi-transfused patients, *Journal of Tropical Pediatrics*, vol. 47, n° 4, pp. 239–242.

Ayed Z. et Haninato D., 1995. Prévalence des marqueurs sérique des virus des hépatites B et C chez les donneurs de sang et les femmes enceintes en Algérie thèse doctorat en médecine: 2005.

After R., Goldsby A., Kindt T.J. et Osborne B.A., 2000. *Kuby immunology*, 4th ed. w. h. freeman and company, p. 162.

Adosen R., 2005. Hépatites virales. Révisé 04/01/2005.

Bernard F., Denise A., Denis F., Nicole G., Francine H., Jeane Marie V., Emmanuel J., Isabelle M. et Jean Claude T., 2005. Risque de contamination horizontale au sein de collectivité d'enfants en cas de présence d'un porteurs du virus de HVB et opportunité de vacciner la population contact rapport de groupe de travaille du conseil supérieure d'hygiène publique de France (GSHPF), thèse doctorat en médecine.

Bajubair M. A., Elrub A. A. et Bather G., 2008. Hepatic viral infections in Yemen between 2000–2005, *Saudi Medical Journal*, vol. 29, n° 6, pp. 871–874.

Bartenschlager R., Cosset F-L. et Lohmann V., 2010. Hepatitis C virus replication cycle. *Jhepatol*, vol. 53, pp. 583-585.

Broutin S., Bouton V., Sinègre M. et Marcellin P., 2006. Histoire naturelle et diagnostic de l'hépatite C, *j. pharm. clin*, 25(1), pp. 49-56.

Boson B., 2008. Contribution de la protéine p7 à la biogénèse du gp e2 et à la localisation intracellulaire de la protéine core du virus de l'hépatite C. Mémoire pour l'obtention du diplôme de l'école pratique des hautes études.

Brun-Vezinet F., Waineborg M., Huraux J.M., Nicolas J.C., Agut H. et Peigue-Lafeuille H., 2003. HIV : Structure, multiplication et physiopathologie. *Traité de virologie*. pp. 319-329

Références Bibliographiques

Boonstra A., Van Der Laan L.J. et al.,2009. Experimental models for hepatitis C viral infection. *Hepatology*, 50(5), pp. 1646-55.

Benouda A., Boujdiya Z., Ahid S., Abouqal R. et Adnaoui M., 2009. Prévalence de l'infection par le virus de l'hépatite-c au Maroc et évaluation des tests sérologiques de dépistage pour la prédiction de la virémie, Elsevier Masson sas pathologie biologique, vol. 57, pp. 368–372.

Bedossa P., 2012. Physiopathologie de la fibrose hépatique. P76

Castaing D. et Mony C., 2014. Le Foie et les Voies biliaires : Anatomie Page mise à jour le 06/10/2014.

Cacoub P., Ohayon V., Sekkat S., Dumont B., Sbai A. et Lunel F., 2000. Etude épidémiologique et virologique des infections par le virus de l'hépatite C au Maroc. *gastroenterol clin biol*, 24, pp.169-173.

Cahour A., 2006. Un nouveau défi pour la recherche sur le virus de l'hépatite c. virologie ; vol. 10, pp.159-65.

Colin C., Lanoir D., Touzet S et al., 2001. Sensitivity and specificity of third generation hepatitis C virus antibody detection assays: an analysis of the literature. *J viral Hepatol*; vol. 8, pp.87-95.

Courouce A.M., Girault A. et Saura Chr Pillonel J. 1998. Dépistage des marqueurs des infections par VHB et VHC chez les donneurs de sang. *Gazette Transfusion*, 107.

Costin I.P. et Dubuisson J., 2010. Hepatitis C assembly and release as antiviral drug targets *birkeandreatews, viruses*, Vol.2, p. 1782-1803.

China Daily M., 2011. Hepatitis C Virus (HCV): Disease Backgrounder. China works to prevent hepatitis transmissions.

Références Bibliographiques

Dubuisson J., Helle F. et Cocquerel L., 2008. Early steps of the hepatitis C virus lifecycle. In Cellular microbiology; 10.p. 821-827.

Diallo A.H., 2006. Séroprévalence de la co-infection par les virus b et c de l'hépatite chez les donneurs de sang a BAMAKO. Pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie. Faculté de Médecine de Pharmacie. p. 1-75.

Daw M. A. et Dau A.,2012. The ScientificWorld Journal: Hepatitis C Virus in ArabWorld .Academic Editors: L. A. Videla and T.Weiss.

Daw M. A., Elkaber M. A., Drah A. M., Werfalli M. M., Mihat A. A. et Siala I. M., 2002. Prevalence of Hepatitis C virus antibodies among different populations of relative and attributable risk. *Saudi Medical Journal*, vol.23, n°.11, pp.1356–1360.

Damoune I., 2012. Les infections chez les hémodialyses chroniques. Thèse pour l'obtention du doctorat en médecine, Maroc.p.82.

Dodd R., Kurt Roth W., Ashford P. et al, 2009. Transfusion medicine and safety. *Biologicals*, 37(2), pp.62–70.

Desenclos J.C.,2003.Epidémiologie de l'hépatite C : état des lieux, beh n°16, p.85-107.

Donahue J G .,Muñoz A., Ness P.M., Donalde B., Brown D. et yawnd H.1992. The declining risk of post-transfusion hepatitis C virus infection. *J Med*, vol. 327, p.369-373.

Durantel D. et Vuillermoz I., 2006. Virologie. in : Trepo C., Merle P., Zoulim F. hépatites virales B et C. éditions :johnlibbeyeurotext, p.125-147.

Dembélé A., 1999. Considérations séro-épidémiologiques sur le virus de l'hépatite C au CNTS de Bamako.Thèse Pharm. N°10.

Elira Dokekiasa D.,Okandze-ElengajB., GouaryKinkounaa S., BokilodziaLepfoundzou A. et Garcia S. 2003. Séroprévalence de l'hépatite virale c chez les malades polytransfusés au CHU de Brazzaville. n°2467. "virologie" *bull socpatholexot*, 96, 4, p. 279-282 .

Références Bibliographiques

Emiroglu N., 2010. WHO data presented at hepatitis B and C summit conference.

Fournier C., et willems B., 2012- l'hépatite c chronique... une maladie curable, le médecin du Québec, volume 47, numéro 4, p.53-60.

FirdausR.,Saha K., BiswasAetSadhukhan P.C.,2014. Current molecular methods for the detection of hepatitis c virus in high risk group population: *world journal of virology*.

Friedman S. L., 2003.Liver fibrosis from bench to bedside.J hepatol;38 , p. s38—53.

Ferchal F et al., 1971. Médecine et maladies infectieuses. Vol.1, P 453-457-464

Guindo., 2003. Infection à VIH et à VHB chez les donneurs de sang au CNTS de Bamako. Thèse Phar. Bamako.

Guirlet F. X., 2012. L'hépatite a virus C : les stratégies thérapeutiques actuelles et en essais cliniques place du pharmacien d'officine dans le conseil et la prise en charge des patients, université de Lorraine, diplôme d'état de docteur en pharmacie. pp. 145.

Gaudy C.et Goudeau A., 2005. La diversité du virus de l'hépatite C : méthodes d'étude, implication dans la pathogenèse et la résistance au traitement, *virologie*, vol. 9, n.5,p 343-55.

George M., Lauer M.D., Bruce D. et Walker M.D. 2001. Hepatitis C virus infection Medical progress.N Engl J Med,Vol. 345, N°.1.

Gordiene., 2003. Virus de l'hépatite c : dynamique, réplication intracellulaire. *virus de l'hépatite c*, paris : Elsevier, p.190.

Ghosn j., Leruez-ville M. et Chaix M.L., 2005. Transmission sexuelle du virus de l'hépatite C. Presse Med, 34.p. 1034-8.

Hannachi N.,Boughammoura L., Marzouk M., Tfifha M., Khlif A., Soussi S.,Skouri H etBoukadida J.,2011. Le risque infectieux viral chez le polytransfusé : séroprévalence de sept agents viraux dans le centre tunisien, *bull. soc. pathol. exot. springer-verlag*, vol.104, p.220-225

Références Bibliographiques

- Hadjiky P., Dadoune J., Siffroi J. et Vendrely E.,** 2000. Histologie. 2ème édition. Flammarion. Paris, p.330.
- Highleyman L. et Franciscus A.** 2004. Une introduction au foie, Hepatitis C support project, hcsp. version 1.0.
- Herbein G.,** 2003. Virus de l'immunoféficience humaine (HIV) : 1-11.
- Imbert I., Dimitrova M., Wolf M. et Schuster C.,** 2004. Réplication du virus de l'hépatite C : systèmes d'étude, avantages et limites. Paris : John Libbey Eurotext.
- Institut National de la Transfusion Sanguine.** 1993. France.
- Kemmegne J., Mbanya D. et Louis FJ.,** 1996. Séropositivité vis-à-vis du virus de l'hépatite C chez les drépanocytaires polytransfusés à Yaoundé. *Médecine tropicale*; 56 (3), p. 309-310.
- Kodjoh N., Bigot A., Avode G., Hougbe F., Attolou V., Tonato S., Diallo P., Zohoun I et Fretz C.,** 1996. Prévalence des anticorps anti-VHC chez les malades drepanocytaires polytransfusés à Cotonou (Bénin), *médecine d'Afrique noire* : 43 (8/9), p.466-467.
- Kiemtoré P.M.N.G.,** 1999. Les anticorps anti toxoplasmiques chez les donneurs de sang et les malades atteints du SIDA à Bamako. Thèse Pharm. N°12.
- Kim C. et Kyong-mi Chang C.,** 2013. Hepatitis C virus: virology and life cycle Changwook, *clinical and molecular hepatology*, vol. 19: n°. 1, p:17-25.
- Kershenobich D.,** 2011. Trends and projections of Hepatitis C virus epidemiology in Latin American. *Liverint*, 31 suppl. 2, p. 18-29.
- Leone N. et Rizzetto M.,** 2005. Natural history of hepatitis c virus infection: from chronic hepatitis to cirrhosis, to hepatocellular carcinoma. *Minerva gastroenterol dietol* , 51 (1), p. 31-46.

Références Bibliographiques

Lavanchy D., 2011. Evolving epidemiology of hepatitis C virus, european society of *clinical microbiology and infectious diseases*, Vol. 17, n°. 2, p.107-11

Marcellin P., Bonjour M., Boujenah J.I., Couzigou P., Degodet A., Jestin C., Lang J.P. et Larsen C., 2007. Hépatite C, Dépistage, Clinique, Prise en charge et conseils aux patients. p.312-332.

Magniez f., 2008. La technique ELISA, *The biotechnological site for the future*.

Mammette A., 2002. Virologie médicale. Lyon : Presses universitaires de Lyon, p.329-352

Marie .E., 2012. Synthèse d'imidazo[1,2-a]pyridines à activité antivirale l'encontre des virus de l'hépatite c et de la diarrhée virale bovine thèse p : 2-302

Miguet A. 2012. VIH et Charge virale pour Sida Info Service.

Moreau R.,2010. Maladie de foie.*Journal clinical*, Paris. 32(4), p. 75-76.

Moussalli J., Melin P., Wartelle-Bladou C. et Lang JP. 2007. Prise en charge de l'hépatite C chez les patients utilisateurs de drogues. *GastroenterolClinBiol*, 31, p. 4S51-4S55.

Marcellin P., Asselah T. et Boyer N. 2004. Histoire naturelle de l'hépatite C.Pawlotsky J.M. et Dhumeaux D. Hépatite C, Paris : EDK, p.480.

Mony C. et Duclos-Vallée J.C. 2014. Les fonctions de foie,<http://www.cancer.ca/fr-ca/cancer-information/cancer-type/liver/anatomy-and-physiology>.

Mauss S., Berg T., Rockatroh J., Sarrazin C. et Wedemeyer H. 2011. Short guide to hepatitis C. Flying publisher and Kamps. Germany.

Organisation Mondiale de Santé., 2009. Conseil exécutif d'hépatite virale. Rapport du secrétariat. eb126/15, http://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/eb126/b126_15-consulté le 25 avril 2012.

Organisation Mondiale de la Santé.,2012-2014.Prévention et contrôle de l'hépatite virale – stratégie intérimaire pour l'action mondiale.

Références Bibliographiques

OMS-WHO.Aide-mémoire N°164,Révisé Octobre 2000.

Orphanet., 2008. Encyclopédie Orphanet Grand Public. Maladies Rares Info Services.Centre de référence des thalassémies. Service d'hématologie pédiatrique. Hôpital des enfants de la Timone. Marseille.

Omar N., Salama K., Adolf S., El-Saeed GS., Abdel Ghaffar N.et Ezzat N. 2011. Major risk of blood transfusion in hemolytic anemia patients, 22(4), p.280-4.

Pawlotsky J.K. et Lunel F., 2004. Le virus de l'hépatite C.in: les virus transmissibles par le sang. p. 23-52.

Pawlotsky J.M., 2000. Hépatite C, Paris : edk, p.480.

Prévot M., 2001. Lexique de Biologie et terminologie médicale.

Pasquier C.,Bertagnoli S.,Dunia D. et Izopet J.2013- Virologie humaine et zoonoses. dunod, édition : Paris, p.270, pp.190-192.

Poordad F.etDieterichdisclosures D., 2012. Genomic Organization of hepatitis C virus polyprotein.

Poitras.etHoude. 2002. Réaction en chaîne par polymérase (fr) elyse. « La PCR en temps réel : principes et applications ». *reviews in biology and biotechnology*(Canada). vol.2, n° 2. p. 2-11.

Payne L., 2009. Hepatitis A In The European Union: Responding To Challenges Related To New Epidemiological Patterns.Eurosurveillance .Vol .14, p. 3.

Renard F., Autier M. et Doumont D., 2005. L'hépatite C en Belgique. Comment améliorer le dépistage et la prévention ? p. 05- 34.

Roudot-thoraval F., 2002. Evolution des caractéristiques épidémiologiques de l'hépatite C. *gastroenterol clin biol*, 26, p. 138-143.

Roudot-thoraval F., 2008. Hépatite C : Epidémiologie et santé publique. in : marcellin p. asselah t. hépatite virales. wolterskluwerfrance sas, p.105-116.

Références Bibliographiques

Rouabhia S., Malek R., Bounecer H. et al. 2010. Prevalence of type 2 diabetes in algerian patients with hepatitis C virus infection,” *World Journal of Gastroenterology*, vol. 16, n^o. 27, pp. 3427–3431.

Segondy m., 2005-diagnostic et suivi biologique des hépatites virales. rubrique gastroentérologie-hépatologie ou infectiologie, **32(4)**, pp.15-17.

Sarro Y., 2002. Etude des paramètres biologiques chez les donneurs de sang infectés par le virus de l'hépatite C au CNTS de Bamako. Thèse Pharm.

Scaramozzino E., Crance J-M., Drouet C., Germi R., Drouet E. et Jouan A., 2002. Les protéases virales dans la famille des flaviviridae. Paris : johnlibbeyeurotext.

Sievert W., 2011. A systematic review of hepatitis C virus epidemiology in asia, australia and Egypt. *Liver international*, 31, p. 61-80.

Smith D.B., Bukh J. et Kuiken C., 2014. Expanded classification of hepatitis c virus into 7 genotypes and 67 subtypes: updated criteria and genotype assignment web resource. *Hepatology*, 59, pp. 318–327.

Steinhausen D.A., Domingo E. et Holland J.J., 1992. Lack of evidence for proofreading mechanisms associated with an RNA virus polymerase. *Gene*, 122, p. 281-8.

Soussan P., Le Pendeven C., 2010. Virus de l'hépatite C. EMC, Elsevier Masson SAS, Paris, Biologie clinique, 90, p. 55-0115.

Steketee J.T., 2010. Métaux lourds Cahiers. SKB, p. 6-72.

Trangelo A.P., 2013. Antibodies of HIV. P 65

Tangara O., 2004. Co-infection hépatite B hépatite C chez les donneurs de sang au CNTS de Bamako, Thèse pharm, 57, p. 61.

Tembely K., 2002. Les transaminases chez les donneurs de sang au CNTS de Bamako. Thèse Phar. Bamako.

Références Bibliographiques

Tangara F., 2006. Séroprévalence de l'infection par le virus de l'hépatite c chez les scolaires abamako, koulikoro et sikasso, faculté de médecine de pharmacie et d'odonto – stomatologie, pour obtenir le grade de docteur en pharmacie, p. 102

Tews B .A., Costin-Ioan P. et Dubuisson .J., 2010. Last Stop Before Exit – Hepatitis C Assembly and Release as Antiviral Drug Targets. *Viruses*, 2, p.1782-1803.

Traoré H., 2004-2005. Etude des paramètres biologiques chez les donneurs de sang infectés par le virus de l'hépatite C. Thèse pharm.

Turdu-Chicot L., Foucan M. et EtienneJ.O.,2002.Séroprévalence virale, transfusion et allo-immunisation chez des adultes drépanocytaires guadeloupéens. Éditions scientifiques et médicales. *Transfus Clin Biol*, 9, p. 115-20.

Van Doorn L.J., Kleter G., Stuyver L., Maertens G. etBrouwer J T. 1995. Sequence analysis of hepatitis c virus genotypes 1 to 5 reveals multiple novel subtypes in the benelux countries. *J gen virol*, 76,p.1871-1876.

Van de laar M.J.L. et Lopalco P.L., 2008. World hepatitisday : atimelyreminder of the challenges ahead. *Euro Surveill*, Vol.13, n°.21.

Weber B., 2000. Reduction of diagnostic window by new fourth-generation human immunodeficiency virus screening assays. *J Clin Microbiol*;38(6) :2459–2461.

Zanetti A.R., et al., 2003. Primary prévention of hépatitis C virus infection. *Vaccine*, Vol. 21, p. 692-695.

Annexe V

Tableau IV: Ce tableau représente la plaque Elisa et regroupe les absorbances à 420nm mesurées dans les différents puits.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0,021	0,014	0,018	0,016	0,016	0,021	0,019	0,021	0,020	0,018	0,018	0,020
B	0,021	0,015	0,021	0,014	0,019	0,021	0,023	0,020	0,020	0,017	0,016	0,023
C	0,027	0,018	0,023	0,022	0,016	0,020	0,014	0,019	0,020	0,018	0,024	0,046
D	0,026	0,015	0,018	2,024	0,018	0,016	0,025	0,020	0,018	0,026	0,021	NC 0,080
E	0,033	0,021	0,019	0,040	0,018	0,043	0,017	0,018	0,026	0,027	0,025	NC 0,099
F	0,045	0,020	0,022	0,450	0,016	0,018	0,022	0,021	0,022	0,024	0,043	PC 1,500
G	0,045	0,018	0,026	0,022	0,019	0,028	0,024	0,035	0,028	0,026	0,024	PC 1,300
H	0,050	0,025	0,029	0,021	0,025	0,031	0,037	0,027	0,023	0,019	0,035	B

PC : Contrôle positif NC : Contrôle négatif B : Blanc

 Cas positif  Cas douteux

➤ Calcule de moyenne du contrôle négatif (MNC) : $MNC = \frac{NC_1 + NC_2}{2}$

$$MNC = \frac{0,080 + 0,099}{2} = 0,089$$

➤ Calcule de valeur seuil (VS) : $vs = MNC + 0,100$

$$Vs = 0,089 + 0,100 = 0,189$$

• D'après les calculs de la valeur seuil les patients E4=0,040 < à VS, donc il est négatif.

par contre F4=0,450 > à VS donc considéré comme positif.

Annexe I

FICHE D'ENQUETE

I. Caractéristiques sociodémographiques

N° ID :

Date:

Age :

Sexe: /...../ 1=Masculin, 2=Féminin

Statut matrimonial : /...../ 1= Célibataire, 2= Marié, 3= Divorcé, 4= Veuf

Profession: /...../ 1=Fonctionnaire, 2= Retraité, 4=Elève/étudiant, 5=Sans emploi,
6 = Autres

II. FACTEURS DE RISQUE

Nombre de transfusions reçues: /...../

Motif de la transfusion: /...../ 1=Leucémie, 2=Hémodialyse, 3= Béta-thalassémie,
4= Drépanocytose, 5= Grossesse à haut risque, 5=Anémie chronique, 6= Insuffisance rénale
chronique, 7=Autres

Histoire d'usage de drogues : /...../ 1=oui, 2= non

Exposition accidentelle (travail) : /.../ 1=oui, 2=non

Partage domicile avec personne VHC : /.../ 1= oui, 2=non

III. Résultats Sérologique

Sérologie VHC : /...../ 1= positif, 2= négatif

Annexe II

I. Matériel non biologique

Appareillage

Centrifugeuse des tubes (3000 trs/minutes)

Réfrigérateur 2 à 5 C°

Incubateur ou étuve à 37 °c

Laveur automatique des microplaques

Chaine Elisa

- Lecteur des densités optiques (spectrophotomètre) (420-620 nm)
- Imprimante

Matériel utilisé

Un garrot

Gants de laboratoire en latex à usage unique

Les tubes secs.

Les micropipettes réglables (20-200µl, 100-1000µl, 10-100 µl)

Les micropipettes fixes de volume: 50 µl, 500 µl.

Portoirs en plastiques.

Les embouts jaunes (0 µl-100 µl)

Les embouts bleus (10 µl-1000 µl)

L'haricot

Eprouvette gradué (300 ml)

Pissette (250 ml)

Coton

Compresse

Alcool

Eau de javel

Eau distillé

Annexe II




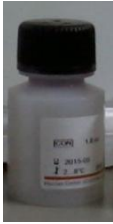




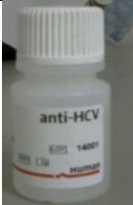
Figure 24 : Lecteur des densités optiques (spectrophotomètre 420-620 nm)



Figure 25 : Laveur automatique des microplaques

Annexe III

Tableau III: Composition de coffret HUMAIN HCV antibody

Réactifs	Type des réactifs	présentation	Volume
	Microplaque : 12 barrettes de microtitration : barrettes sécables à 8 puits enduites d'antigènes VHC recombinants (E.coli).	1	96 puits
	Conjugué anti-VHC (capuchon noir) Coloré en rouge foncé Agr VHC conjugué à la peroxydase Saline tamponnée par phosphate	1 flacon	1, 8 ml
	Solution de lavage (20×) (capuchon blanc) Concentré pour env. 2000 ml pH 6,5 ±0,1 Saline tamponnée par phosphate Tween-20(0,2%).	1 flacon	110 ml
	Diluant du conjugué (capuchon blanc) : Saline tamponnée par phosphate. PH 6,5±0,1	1 flacon	24 ml
	Réactif de Substrat A (capuchon blanc) Peroxyde d'hydrogène 0, 03% Tampon d'acide citrique 0,06 mol/l	1 flacon	12 ml
	Réactif de Substrat B (capuchon noir) 3,3', 5,5'-Tétraméthylbenzidine(TMB) 0, 6 mg/ml DMSO 0, 7 mol/l	1 flacon	8 ml
	Solution d'arrêt (capuchon blanc) Acide sulfurique, prêt à l'usage 0,5 mol/l	1 flacon	8 ml

Annexe III



	Contrôle négatif anti-VHC (capuchon jaune) prêt à l'usage, sérum humain	1 flacon	4, 5 ml
	Contrôle positif anti-VHC (capuchon rouge) prêt à l'usage, sérum humain	1 flacon	3, 5 ml
	Feuillets adhésifs	3	
	Porte barrettes	1	



Figure 26: Coffret HUMAN HCV antibody EIA Test Kit.

Annexe IV

I. Préparation des Réactifs

Ramener tous les réactifs à la température ambiante (15-25 C°) avant l'utilisation.

1. Solution de conjugué prête à l'emploi WCON

- Diluer CON au 1+ 20 avec du C-DIL. 50 µl de CON +1000 µl de C-DIL pour 8 puits.

(100 µl sont requis par puits)

- Préparer de nouveau pour chaque série.
- Stabilité : 6 heures à température ambiante (15-25 C°) ou 2 jours à 2-8 C°.

2. Solution de lavage prête à l'emploi WASH

- Des cristaux dans WS doivent être dissous en chauffant la solution à 35-37 C°.
- Diluer WS au 1 + 19 avec de l'eau fraîche et déionisée, 50 ml de WS + 950 ml =1000

ml.

- Environ 5,6 ml de WASH sont requis par puits.
- Ne préparer que la quantité nécessaire pour la série en cours.
- Stabilité : 2 jours à la température ambiante (15-25 C°) ou 1 semaine à 2- 8 C°.

3. Solution de substrat prête à l'emploi SUB

▪ Avant l'utilisation, préparer la quantité nécessaire de SUB en mélangeant du SA et SB à parts égales dans un récipient propre en plastique rincé avec de l'eau déionisée.

- SB doit être incolore à bleu clair, au cas contraire, il faut le jeter.
- Manipuler SUB soigneusement et éviter la contamination (n'utiliser pas si coloré en

bleu).

- Stocker à l'abri de la lumière claire.
- Stabilité : 6 heures à température ambiante (15-25 C°).

II. Echantillons, contrôles

Sérum et plasma anti coagulés avec du citrate, de l'héparine ou de l'EDTA.

En utilise pas les échantillons très lipémiques, hémolytiques ou ictériques.

Les échantillons peuvent être stocké pour 12 heures à température ambiante (15-25 C°), pour 24 heures à 2-8 C°, ou pour un an à -20C°.

III. Congeler et dégelé seulement une fois : Les échantillons dégelés doivent être soigneusement homogénéisé. Eliminer des composants particuliers par centrifugation ou filtration.

Glossaire

Bêta-thalassémie : ou thalassémie *bêta* est une maladie génétique de l'hémoglobine (Orphanet, 2008).

Biopsie : consiste à prélever une toute petite partie d'un organe ou d'un tissu afin d'effectuer des examens microscopique ou une analyse biochimique (Callard, 2010)

Cirrhose: Maladie chronique du foie provoquée par une altération de ses cellules (Pierre, 2002).

Charge virale: La quantité de virus dans le sang circulant (Miguet, 2012).

Endémie : Présence habituelle d'une maladie infectieuse dans une région donnée ou dans une population humaine (Prévot, 2001).

Fibrose: transformation de certains tissus en un tissu composé de fibre (Bedossa, 2012).

Hémophiles : Maladie héréditaire qui se manifeste par une insuffisance de coagulation du sang (Prévot, 2001)

Hémopathie : « hémo » (sang) et « pathos » (ce qu'on éprouve), désigne les maladies du sang et de ses composants (Horde, 2014)

Hépatite : maladie inflammatoire du foie, souvent par infection virale (Pasquier *et al.*, 2013).

Leucémie : cancer du sang caractérisée par la prolifération de cellules de la moelle osseuse (Prévot, 2001)

Prévalence : Nombre total des sujets infectés à un moment donné (Pasquier *et al.*, 2013)

Parenchyme : tissu fonctionnel d'un organe par opposition au tissu conjonctif (soutien et remplissage) (Prévot, 2001)

Séroconversion : apparition dans le sérum d'anticorps spécifiques à la suite d'une infection. (Trangelo, 2013).

Stéatose: c'est-à-dire l'accumulation anormale des graisses dans les cellules hépatiques (Moreau, 2010).

Transcriptase inverse : enzyme capable de transcrire de l'ARN en ADN (Pasquier *et al.*, 2013).

Tropisme : préférence des agents infectieux pour certains tissus, organes ou cellules (Pasquier *et al.*, 2013).

Virémie : vient des termes virus et -emia (sang) et correspond donc à la présence de virus dans le sang (Ferchal *et al.*, 1971).

Introduction

Chapitre I

Rappels Bibliographiques

Chapitre II

Matériel et méthodes

Chapitre III

Résultats et Discussion

Références Bibliographiques



Conclusion



Annexes