

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université SAAD DAHLEB-BLIDA



Faculté des sciences Agronomiques, Vétérinaires et Biologiques

Département de Biologie

Mémoire de projet de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme

De Master

Domaine: Science de la Nature et de la Vie

Spécialité: Analyse biologiques et biochimiques

Option: Génie Biologique

Thème

*Dépistage de l'hépatite B et C des donneurs de sang de la
ville de MEFTAHA*

Soutenu publiquement le: 23-09-2013

Présenté par:

M^{me} TAOUALIT Nadjat

M^{me} KADEM Khadidja

Devant le jury:

<i>M^{me} INAL D.</i>	<i>MAA</i>	<i>USDB</i>	<i>Présidente</i>
<i>M^{me} BENSALAH L.</i>	<i>MAB</i>	<i>USDB</i>	<i>Examinatrice</i>
<i>M^{elle} METIDJI H.</i>	<i>MAB</i>	<i>USDB</i>	<i>Examinatrice</i>
<i>M^{elle} ZATRA Y.</i>	<i>MAA</i>	<i>USDB</i>	<i>Promotrice</i>
<i>Dr SAHEL A.</i>	<i>Médecin spécialiste en transfusion</i>		<i>Co-promoteur</i>

Promotion 2012-2013

Remerciement

Nous devons d'abord remercier Dieu le Tout Puissant qui nous a donné le courage et la patience afin d'accomplir ce travail.

Nombreux sont ceux qui ont contribué d'une façon ou d'une autre à l'aboutissement de ce mémoire.

Nous remercions en particulier :

M^{me} INAL D. qui nous a fait l'honneur de présider le jury, et à qui nous adressons nos sincères gratitude.

M^{elle} BENSALLEH L. et M^{elle} METIDJI H. pour l'examen de notre travail.

Nous tenons à remercier très cordialement notre promotrice : M^{me} ZATRA Y. pour avoir accepté de diriger notre travail, pour son aide, son orientation, sa gentillesse et pour tous ses encouragements.

Nous tenons à remercier vivement notre co-promoteur Dr SAHEL A. Pour son aide et ces conseils.

Nos remerciements s'adressent à toute l'équipe du point de transfusion sanguine et surtout M^{me} AMROUCHE Houria et l'équipe de laboratoire centrale.

Un remerciement spécial au département de biologie.

À tous nos enseignants durant nos études et à tous les étudiants de biologie.

Dédicaces

*Tout d'abord je remercie mon Dieu tout puissant pour toutes les
bénédictions.*

&

*Je tiens à faire un dédicace exceptionnelle pour une personne qu'elle
est la plus chère au monde ma mère.*

*Je dédie aussi ce modeste travail à l'esprit de mon père, qui restera
toujours dans mon cœur et pensé.*

Je tiens aussi à exprimer mes profonds sentiments à:

A mes chers frères: Omar, Rafik, Imad et Radouan.

A ma très chère sœur unique Linda et son mari Mohamed.

A mes belles sœurs.

*A mes aimables nièces et neveux: surtout Razika à qui je souhaite
beaucoup de succès et de réussite dans ces études. Ainsi que Abdo, Soso,
Anes, Hossam, Issam, Nihal et Ahmed.*

A mon fiancé Nabil ainsi que ma belle famille.

*A celle qui a partagé avec moi le bon et le mauvais pour réaliser ce
travail, mon binôme et mon amie Khadidja ainsi que sa famille.*

A tous ceux que j'aime et qui m'aime et toute la promotion de master

2012 - 2013.



Nadjet



Dédicaces

Je dédie le fruit de mes études à:

Mes très chers parents, je tiens à vous dire combien vous êtes chère à mon cœur, je voulais vous remercier, d'avoir fait de moi ce que je suis aujourd'hui et des valeurs avez si bien su m'inculquer, la gentillesse, le respect et le dévouement. Je suis si fière d'être votre fille.

A toi papa, je veux dire que tu es l'homme que j'aime le plus au monde je prie Dieu le tout puissant de vous garder au près de nous et de vous donner la santé et la force pour terminer jusqu'au bout.

A toi maman, tu m'a tellement donné aussi que je n'ai pas assez de mots pour t'exprimer, tout d'abord ma reconnaissance et ma plus profonde tendresse.

A mes très chers frères: Mohamed, Zohir et Samir

A ma très chère sœur Fatma et son mari samir, mes belles sœurs,

*A mes nièces et neveux: Zinouba, Mohamed Ismail, Abdeljalile, anis et
Abdelbasset.*

*A ceux que j'ai de plus chères dans ma vie mon mari Amine et ma
belle famille.*

*Mon binôme et très chère amie Nadjet, à qui je souhaite une vie pleine
de bonheur et de succès, ainsi que sa famille*

A toutes mes amies et ma famille

Khadija



LISTE DES FIGURES

LISTE DES FIGURES

Figure	Titre	Page
Figure 1	Schéma des principales fonctions physiologiques du foie	2
Figure 2	Structure du virus de l'hépatite B	4
Figure 3	Distribution géographique des infections chroniques par le virus de l'hépatite B.	5
Figure 4	Manifestations cliniques d'une infection par le VHB	6
Figure 5	Structure schématique de la particule virale VHC	8
Figure 6	Organisation génomique du VHC et protéines virales	9
Figure7	Carte de distribution géographique du VHC dans le monde	10
Figure 8	Répartition des donneurs selon le sexe	24
Figure 9	Distribution des donneurs selon les tranches d'âge	25
Figure 10	Répartition des donneurs en fonction des résultats sérologiques	26
Figure 11	Répartition des donneurs séropositifs pour Hbs et HCV selon le sexe	27
Figure 12	Répartition des donneurs séropositifs pour Hbs et HCV selon les tranches d'âge	28
Figure 13	Variation de taux des phosphatases alcalines chez les donneurs	29
Figure 14	Variation de taux des Bilirubine (direct et totale) chez les donneurs	30
Figure15	Variation de taux transaminase des chez les donneurs	31

--	--	--	--

LISTE DES TABLEAUX

Tableau	Titre	page
I	principales caractéristiques des virus (A, B, C, D, E) d'hépatite virale	03
II	Composition de coffret BIOLOGIX HBs Ag EIA KIT	Annexe III
III	Composition de coffret BIOLOGIX HCV antibody EIA Test Kit	Annexe III
IV	Répartition des donneurs en fonction de sexe	Annexe IV
V	Répartition des donneurs selon les tranches d'âge	Annexe IV
VI	Répartition des donneurs en fonction de résultat sérologique pour Ag Hbs	Annexe IV
VII	Répartition des donneurs en fonction de résultat sérologique pour l'hépatite virale C.	Annexe IV
VIII	Répartition des donneurs d'Hbs positif selon le sexe	Annexe IV
IX	Répartition des donneurs d'Ac HCV positif selon le sexe	Annexe IV
X	Répartition des donneurs d'Hbs positif selon les tranches d'âge.	Annexe IV
XI	Répartition des donneurs d'Ac HCV positif selon les tranches d'âge.	Annexe IV
XII	Variation des taux des transaminases chez les donneurs de sang.	Annexe IV
XIII	Variation de taux de phosphatase alcaline chez les donneurs de sang	Annexe IV
XIV	Variation de taux de la bilirubine chez les donneurs de sang	Annexe IV
XV	bilan hépatique chez les donneurs de sang	Annexe IV

LISTE DES ABREVIATIONS

Abréviation	Désignation
Ac Anti HBc	Anticorps anti-protéine “core”
Ac Anti HBe	Anticorps anti-protéine “enveloppe”
Ac Anti HBs	Anticorps anti-protéine de surface
Ag HBe	Antigène d’enveloppe
Ag HBs	Antigène de surface
ALAT	Alanine aminotransférases
ASAT	Aspartate aminotransférases
BD	Bilirubine directe
BT	Bilirubine totale
CGR	Concentré de globule rouge
CHC	Carcinome hépatocellulaire
C.O	Cut-off (valeur seuil)
CP	Concentrées plaquettaires
ELISA	Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
IFN	Interféron
IST	Infection Sexuellement Transmissible
LDH	lactate déshydrogénase
MDH	Malate déshydrogénase
NAD⁺	Nicotinamide adénine dinucléotide
OMG	Organisation mondiale de gastroentérologie
PAL	Phosphatase alcaline
PCR	polymérase Chain Réaction
PFC	Plasma frais congelé
PSL	Produit sanguin labile

PTS	Point de transfusion sanguine
RIA	Radio immuno assays
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 Delta

Sommaire

Introduction.....	1
Chapitre I: Rappels bibliographiques	
I.1-Transfusion sanguine.....	2
I.2-Anatomie et physiologie de foie.....	3
I.3-Hépatites virales.....	4
I.3.1-Hépatite virale B.....	5
I.3.1.1-Structure virale.....	5
I.3.1.2-Épidémiologie.....	7
I.3.1.3-Mode de transmission.....	7
I.3.1.4-Clinique.....	8
I.3.1.5-Traitement.....	9
I.3.2-Hépatite virale C.....	10
I.3.2.1-Structure virale.....	10
I.3.2.2-Épidémiologie.....	11
I.3.2.3-Mode de transmission.....	12
I.3.2.4-Clinique.....	12
I.3.2.5-Traitement.....	13
I.4-Tests de dépistage des hépatites virales B et C.....	14
I.5-Tests biochimiques complémentaires.....	15
Chapitre II: Matériel et méthodes	
II.1-Matériel.....	16
II.2-Méthodes.....	16
II.2.1-Prélèvement sanguin.....	16
II.2.2-Traitement des échantillons	17
II.2.3-Technique de dépistage de HBV.....	17
II.2.4-Technique de dépistage de HCV.....	19
II.2.5-Tests biochimique complémentaires	20

Chapitre III: Résultats et Discussion

III-Résultats sérologiques.....	26
III.1.1-Répartition des donneurs selon le sexe.....	26
III.1.2-Répartition des donneurs selon les tranches d'âge.....	27
III.1.3-Répartition des donneurs en fonction des résultats sérologiques.....	28
III.1.4-Répartition des donneurs séropositifs pour HBV et HCV selon le sexe.....	29
III.1.5-Répartition des donneurs séropositifs selon les tranches d'âge.....	30
III.2-Résultats biochimique.....	31
III.2.1-Variation de taux des phosphatases alcalines chez les donneurs.....	31
III.2.2-Variation de taux des Bilirubine (direct et totale) chez les donneurs.....	32
III.2.3-Variation de taux des transaminases chez les donneurs.....	33
Conclusion.....	35

Référence bibliographique

Annexes

Résumé

Une étude prospective et rétrospective est composée de 749 donneurs au point de transfusion sanguine de MEFTAH permet de dépister la présence d'antigène de surface de virus d'hépatite B (Ag Hbs) et d'anticorps anti virus de l'hépatite C (HCV) en cas d'hépatite virale B et C chez les donneurs de sang, par la technique immuno-enzymatique (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay). Nous rapportons 09 cas séropositifs pour le virus d'hépatite virale B (HBV) et seulement 02 cas séropositifs pour HCV, d'après nos résultats le pourcentage de séropositivité était plus élevé chez les hommes (1,34%) que les femmes (0,14%) et surtout la population adulte entre 18 et 49 ans qui est la plus exposée. Nous avons complété nos analyses sérologiques par des analyses biochimiques sur 5 cas portants l'antigène HBs choisis au hasard en se basant sur 3 paramètres hépatiques qui sont: la phosphatase alcaline, les transaminases et la bilirubine directe et totale. Les résultats de ces analyses ont montré étaient que les moyennes de phosphatase alcaline (98-279U/l), et les pourcentages de bilirubine direct (3,13%), totale (11,11%) sont appartiennent aux normes malgré que ces malades atteinte d'hépatite B avec une augmentation significative des taux des transaminase (51,22%).

Mots clés:

donneurs de sang, Virus d'hépatite virale B, Virus d'hépatite virale C, ELISA, Bilirubine.

الملخص

دراسة مستقبلية ورجعية تضم عينة من 749 متبرع بالدم في نقطة حقن الدم بمفتاح. بهدف كشف وجود فيروس التهاب الكبد "ب" و "س" لدى المتبرعين بالدم بواسطة تقنية مناعية انزيمية حساسة و دقيقة. وفقا لدراستنا تحصلنا على 9 حالات تعاني من التهاب الكبد الفيروسي ب وحالتان تعاني من التهاب الكبد الفيروسي س وعلى ضوء هذه النتائج لاحظنا ان نسبة الاصابة لدى الرجال (1,34%) اكثر من النساء (0,14%) وخاصة لدى فئة البالغين بين 18 و 49 سنة الذين هم اكثر عرضة. اردنا اكمال دراستنا المصلية بتحليل بيوكيميائية لدى 5 متبرعين حاملين للفيروس ب مختارين عشوائيا , الدراسة ضمت ثلاثة معايير كبدية و على ضوء هذه الدراسة تحصلنا على معدل الفوسفاتاز الترونس (279U/l-98)

بالرغم من ان الحالات المدروسة تعاني من التهاب الكبد الفيروسي ب . مع زيادة معتبرة في تركيز الترانس اميناز

الكلمات المفتاح

التهاب الكبد الفيروسي "ب" - التهاب الكبد الفيروسي "س" - متبرعين بالدم -تقنية مناعية انزيمية

Introduction

Les hépatites virales sont essentiellement dues aux virus A, B et C. Le virus A se transmet par voies entérale et n'évolue jamais vers la chronicité, Le virus B se transmet surtout par voie parentérale et sexuelle et évolue vers la chronicité dans 5 à 10% des cas avec risque de cirrhose et de carcinome hépato-cellulaire, Le virus de l'hépatite C se transmet surtout par voie parentérale, évolue vers la chronicité dans environ 70% des cas (**Zarski et al., 1991**).

Les virus des hépatites virales **B** et **C** peuvent être transmis par divers voies, soit par le sang et les produits sanguins (transfusion sanguine) soit par le sexe. Pour le virus de l'hépatite virale B, le mode de contamination prédominant est sexuel dans les pays de faible endémie périnatale, dans les pays de forte endémie le risque de contamination fœto-maternel est élevée en fonction de la charge virale (**Bernard et al., 2005 ; Catrice, 2009**).

Pour le virus de l'hépatite virale C, les modes de contamination principaux sont les antécédents de transfusion et l'utilisation des substances intraveineuses (**Bernard et al., 2005**).

La prévalence élevée de transmission des virus B et C chez les donneurs de sang, a montré la nécessité d'introduire le dépistage systématique de ces infections chez tous les donneurs de sang (**Broocks et al., 2001**).

Nous avons réalisé une étude pratique sur un échantillon de 749 donneurs (obtenu après une étude prospective sur 290 donneurs et rétrospective sur un échantillon de 459 donneurs). L'objectif de notre travail était le dépistage systématique de HBV et HCV chez les donneurs de sang et l'étude de quelques paramètres hépatiques, à savoir la phosphatase alcaline, les transaminases et la bilirubine directe et totale. Chez les donneurs affecter par le HBV ; afin d'écarter les poches séropositifs dans le but d'assurer la sécurité transfusionnelle.

I.1-TRANSFUSION SANGUINE

I.1.1-Définition

Une transfusion sanguine est une opération consistant à injecter par perfusion intraveineuse d'un produit sanguin labile (PSL) (**Siegenthaler et Bosman, 2008**).

Cependant, les receveurs ne peuvent pas recevoir n'importe quel sang, il doit être adapté au groupe sanguin, c'est la compatibilité entre groupes sanguins. On dit alors que le groupe sanguin O est un donneur universel et que le groupe sanguin AB est un receveur universel (**Malraux, 2008**).

I.1.2-Produits sanguins labiles

Les produits sanguins labiles (PSL) sont obtenus à partir d'un don de sang totale, dont la séparation permet d'obtenir des concentrés de globule rouge (CGR), des concentrées plaquettaires (CP) et de plasma frais congelé (PFC) (**Levy, 2001**).

I.1.3-Risques

La transfusion sanguine peut entraîner dans certains cas des accidents qui peuvent être immunitaires et infectieux:

A/ Les accidents immunitaires

Un accident immunitaire survient quand il y a incompatibilité entre groupes sanguins.

Si le groupe sanguin est incompatible alors l'accident peut être mortel. Grâce aux technologies modernes et à l'analyse des groupes sanguins, ces accidents arrivent rarement. De ce fait, la transfusion sanguine est à 98% sûr. Les 2% restant proviendrait d'une réaction « frisson-fièvre », incidents courts et bénin (**Malraux, 2008**).

B/ Les accidents infectieux

Un accident infectieux peut intervenir pour :

- ❖ une contamination bactérienne du produit (sang, plaquettes, plasma) transférés. Aujourd'hui ce type d'accident est très rare. Les conservations de sangs sont rigoureuses pour éviter ce problème. Cependant, quand cet accident se produit, il peut être mortel. Ces bactéries peuvent provenir d'une infection de la peau, d'une aiguille ou du matériel lors de la ponction veineuse.

- ❖ un risque viral, aujourd'hui a nettement diminué grâce aux interrogatoires et analyses de sangs qui n'acceptent pas le sang des « donneurs à risques » ainsi que le traitement du sang recueillis. Le risque viral peut contaminer le patient de maladie tel que les hématites virales, HCV, HBV et HIV (**Malraux, 2008**).

I.1.4-Contrôles

A l'occasion de chaque don, le donneur fait l'objet d'un contrôle clinique: Entretien médical (un document de préparation à l'entretien médicale préalable au don du sang), et de contrôles biologiques obligatoires: c'est le dépistage de syphilis, détection de l'antigène de surface de virus d'hépatite B (HBs), dépistage des anticorps anti Virus de l'immunodéficience humaine (VIH), et dépistage des anticorps anti virus de l'hépatite virale C (VHC) (**Tazerout et Galinier, 2003**).

I.2-ANATOMIE ET PHYSIOLOGIE DE FOIE

I.2.1-Anatomie

Le foie est l'organe le plus volumineux de l'organisme et le seul capable d'une régénération en masse (**Denis, 1991; Hadjiky et al., 2000**). Il est divisé en deux gros lobes, un grand lobe hépatique droit et un plus petit lobe hépatique gauche (**Schaffler et Schidi, 1999**). Le foie a une structure essentiellement cellulaire, le parenchyme hépatique est organisé autour d'un réseau vasculaire complexe et entrecoupé par les canaux biliaires (**Hadjiky et al., 2000**).

I.2.2-Physiologie et fonctions hépatocellulaires

Le foie exerce des fonctions multiples endocrines et exocrines. Il assure plusieurs fonctions métaboliques et régulatrices en plus d'être une partie vitale du système digestif (**Vacheret, 1999**) (**Figure 01**), qui présente principales fonctions métabolique du foie:

A. Fonctions métabolique

- **Métabolisme glucidique:** (Régulation de la glycémie) (**Thomson et Shaffer, 2005**).
- **Métabolisme lipidique:** synthétisent les lipoprotéines qui font le transport aller-retour des acide gras, des triglycérides et du cholestérol entre le foie et les cellules de l'organisme. Il synthétise aussi le cholestérol et l'utilise pour produire les sels biliaires (**Tortora et Reynolds, 2002**).

- **Métabolisme protéique:** les hépatocytes synthétisent de façon continue la plupart des protéines du plasma sanguin, Transamination et désamination oxydative des acides aminés (ALAT et ASAT) (Thomson et Shaffer, 2005).

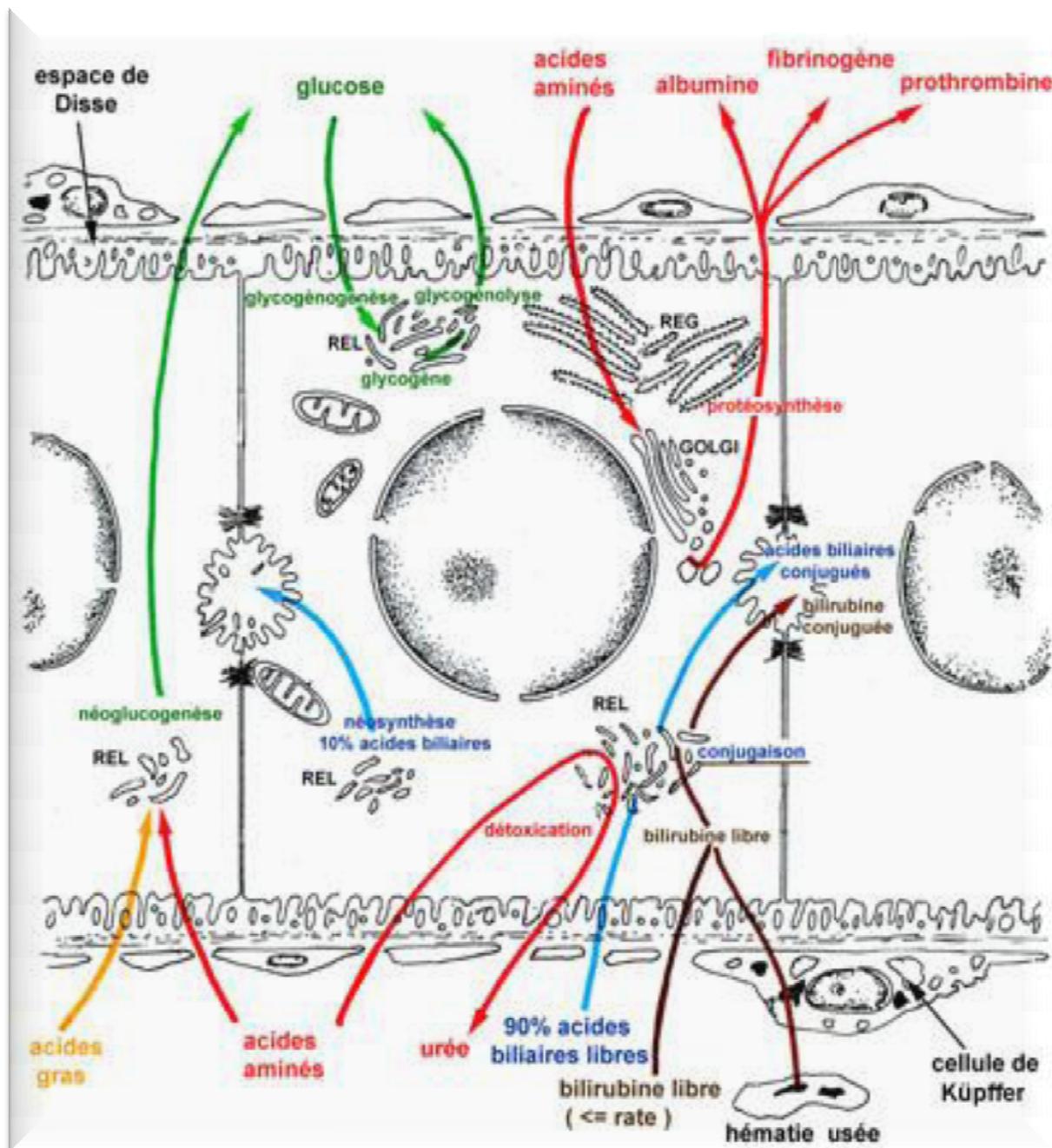


Figure 01: Schéma des principales fonctions physiologiques du foie (Vacheret, 1999).

B. Fonction Biliaire

Excrétion de bile qui est acheminée par les canaux biliaires vers le duodénum. Il synthétise environ un litre de bile par jour (Gerich, 1993).

C. Fonctions de détoxification

Le foie joue un rôle important dans le métabolisme de nombreux médicaments exogènes et d'hormones endogènes par l'action de plusieurs systèmes enzymatiques impliqués dans la transformation biochimique (Antony *et al.*, 2000).

I.2.3-Physiopathologie

Les maladies du foie affectent des personnes de tout âge. Certaines sont fréquentes comme la stéatose, l'hépatite (B et C) alors que d'autres sont rares comme la cirrhose biliaire primitive (due à une atteinte auto-immune des voies biliaires) ou certaines maladies génétiques (Moreau, 2010).

I.3-HEPATITES VIRALES

Cinq virus sont des agents spécifiques d'hépatites, et leurs principales caractéristiques sont représentée dans le tableau suivant:

Tableau I - principales caractéristiques des virus de l'hépatite virale

Virus Caractéristique	A	B	C	D	E
Famille	Picornaviridae	hépadnaviridae	Flaviridae outgaviridae	Apparent aux viroides	Caliciviridae
Genome	ARN	AND	ARN	ARN	ARN
Envelope	-	+	+	+	-
Contamination	Enterale	Parenterale	Parenterale	Parenterale	Enterale
Risque transfusionnel	-	+	+	+	-
Hépatite fulminante	-	+	+	+	+
Hépatite chronique	-	+	++	+	-
Thérapeutique anti virale	-	Vidarabine IFN	IFN	-	-
Prevention par vaccination	+	+	-	+	-

+ : Présence ; - : Absence ; IFN : Interféron

(Crainic et Nicolas, 1993)

I.3.1-Hépatite virale B

Le virus de l'hépatite B (HBV) identifié par **Blumberg** en 1963 (**Seigneurin et Morand, 1997**) appartient à une famille de virus à ADN enveloppée les *Hepadnaviridae* (**Schaechter et al., 1999**), infecte les hépatocytes principalement, réplication surtout nucléaire (**Goffard, 2012**).

I.3.1.1-Structures virale

Dans le sang d'un malade en phase active de synthèse virale, on peut observer trois types de structure (**Fleury, 1993**) :

- ✓ des particules incomplètes de forme sphérique ou tubulaire (**Maurin, 1984**), d'un diamètre de 22 nm ne sont pas infectieuses (**Segondy, 2005**).
- ✓ des particules complètes de forme sphérique de 42 nm (**Crainic et Nicolas, 1993**), sont des virions qui sont infectieux (**Segondy, 2005**), constituées d'une enveloppe virale de 27 nm contenant l'ADN virale et l'ADN polymérase (**Huraux et al., 2003**).

➤ génome virale

C'est une petite molécule d'ADN (le plus petit génome des virus à ADN) (**Thibault, 2001**), de 3200 paires de base. Ce génome est circulaire partiellement bicaténaire (**figure 02**), il code pour des protéines virales distinctes (**Zoulime et al., 2006**).

A. Protéines d'enveloppe

On distingue 3 types de protéines d'enveloppe (**Segondy, 2005**) (**figure 02**):

- **Petite protéine:** codée par la région S, représente la protéine majeure (80%).
- **Protéine moyenne:** codée par la région préS2 + S, la moins abondante.
- **Grande protéine:** codée par la région préS1 + préS2 + S.

B. Protéines de la capsid (core)

On distingue 2 types de protéines de la capsid (**Segondy, 2005**) (**figure 02**) :

- **Protéine HBc :** codée par la région C, elle constitue la capsid virale.
- **Protéine HBe :** codée par la région pré-C et une partie de la région C.

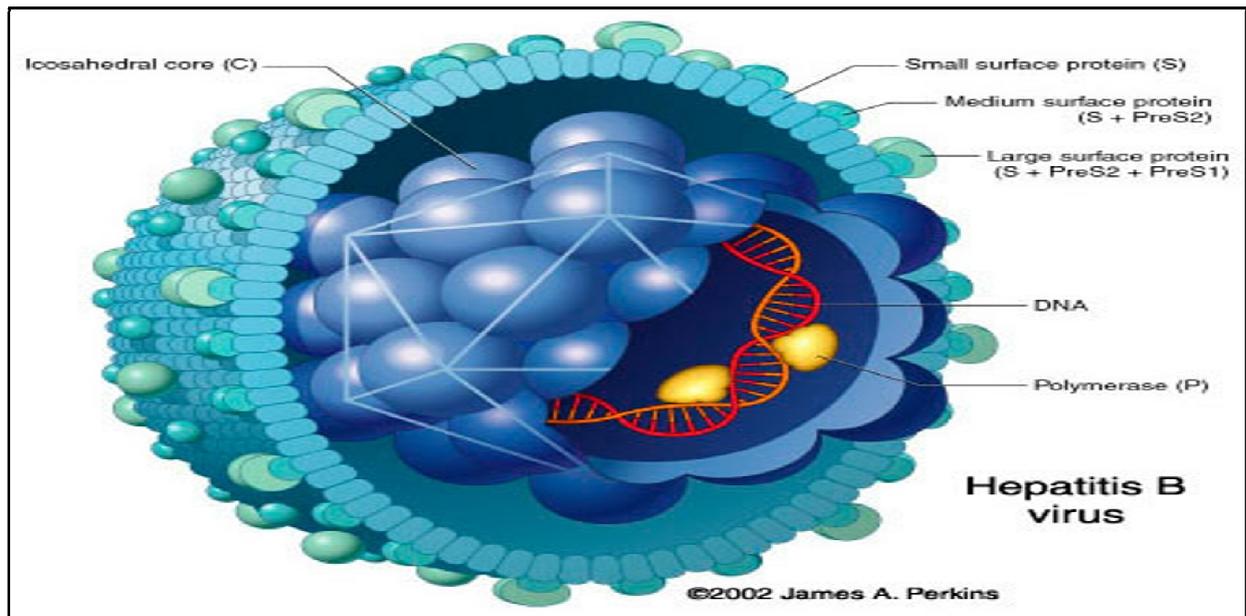


Figure 02: structure du virus de l'hépatite B (Goffard, 2012).

I.3.1.2-Epidémiologie

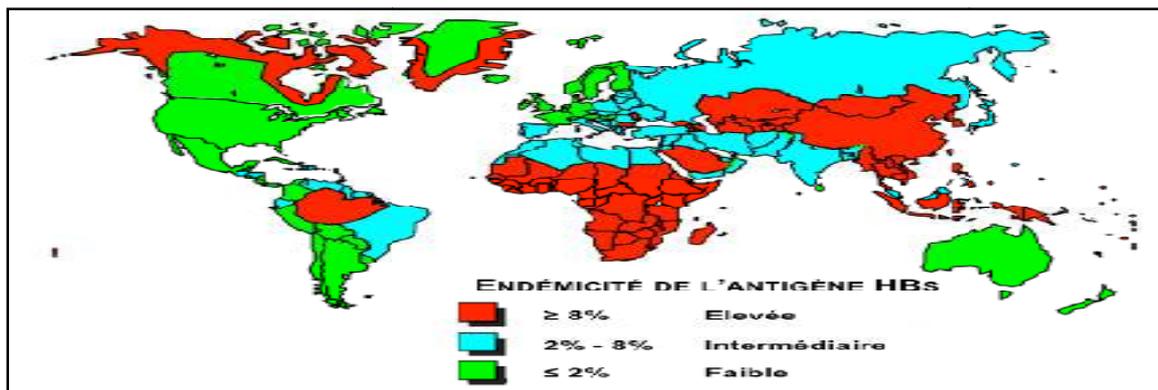


Figure 03 : Distribution géographique du HBV dans le monde (Charlotte, 2009).

L'hépatite B est une maladie infectieuse grave, extrêmement contagieuse, qui provoque plus de 600 000 décès par an dans le monde (Goldstein *et al.*, 2005). On estime à environ 375 millions le nombre de porteurs chroniques du VHB (Maurin, 1984).

Entre 15 et 40 % de ces derniers développent des complications hépatiques de type cirrhose, lésion du foie et hépatocarcinome (Lok, 2002 ; Lavanchy, 2004), selon la figure 03 on distingue :

Les zones de forte endémie 8 à 20% de la population présente une infection chronique.

Les zones de moyenne endémie 2 à 8% de la population présente une infection chronique.

Les zones de faible endémie Moins de 2% de la population présente une infection chronique (Villeneuve, 2012).

I.3.1.3-Modes de transmission

Il est important de préciser que la source de l'infection n'est pas identifiée dans 35% des cas (who, 2002).

A. Transmissions à risque élevé

➤ Transmission parentérale

Le VHB peut se faire par transfusion sanguine, accident par piqûre ou infection avec du matériel non stérile (Seigneurin et Morand, 1997).

Il peut également être transmis lors de soins, notamment par :

- des injections administrées avec des aiguilles ou des seringues réutilisées sans stérilisation
- l'administration de produits sanguins dans les pays où aucun dépistage de l'AgHBs n'est pratiqué sur les dons de sang (Franchis et Marcellin, 2003).
- la chirurgie, soins dentaire, l'hémodialyse, le risque professionnel (ce mode de transmission peut toucher le personnel soignant, lors d'accident d'exposition au sang) (Catrice, 2009).

➤ Transmission sexuelle

Le VHB se transmet très facilement par des rapports non protégés avec une personne porteuse de l'Ag HBs du VHB. Le risque de contamination par voie sexuelle peut varier de 30 à 80% (Franchis et Marcellin, 2003).

➤ Transmission périnatale

Les enfants nés de mère Ag HBs positif qui n'ont pas été infectés pendant la période périnatale. Dans une étude (Kramvis et Kew, 2007), Rien n'indique que le VHB se transmette par l'allaitement maternel (Catrice, 2009).

B. Transmissions à faible risque

➤ Transmission horizontale

Elle se produit par des contacts étroits avec des porteurs chroniques au sein de la famille ou en collectivité. Elle résulte le plus souvent des contacts de lésions cutanées ou muqueuses avec du sang contaminé (Catrice, 2009), ou le partage d'objets tels que brosse à dents, et les objets de toilette, de tatouage et de maquillage (Sophie,2002; Bernard et al.,2005).

C. Transmission à risque nulle

Le VHB ne se transmet jamais par l'aire, la nourriture, l'eau, ni par les selles (**Collier et Oxford, 2004**).

I.3.1.4-Clinique de l'hépatite virale B

Le VHB est responsable d'infections aiguës, d'hépatites chroniques et parfois évolue vers la cirrhose et le cancer du foie (Liaw et Chu, 2009) (figure 04).

A. Hépatite aiguë à VHB

L'hépatite B aiguë se présente sous différentes formes (**Goffard, 2012**):

- **une forme asymptomatique ou anictérique** dans 70% des cas environ
- **une forme symptomatique** dans 30% des cas environ
- **une forme fulminante**: 1 à 2% des cas environ.

Suite à une hépatite B aiguë, certains patients évoluent vers la chronicité, chez l'adulte la guérison survient dans plus de 95% des cas (**Goffard, 2012**). L'évolution vers la chronicité est observée dans environ 10% des cas (**Segondy, 2005**).

B. Hépatite chronique à VHB

L'hépatite chronique est définie par la persistance de l'antigène HBs associé aux anticorps anti HBc et aux marqueurs de réplication virale (**Zarski et al., 1991**).

Les porteurs inactifs sont définis par des transaminases normales pendant 1 an, un ADN viral indétectable (inférieur au seuil de significativité), Ag HBs positif et Ac Anti HBs négatif (**Catrice, 2009**). Il est important de vérifier l'absence de signe clinique, biologique ou échographique de fibrose hépatique évolué ou de cirrhose chez ces patients (**Asselah et al., 2008**). Des réactivations peuvent survenir chez ces patients, avec une réapparition de l'ADN viral dans le sérum. Ils doivent donc être surveillés annuellement à vie (**Levy et al., 1990; Gayon et Mercellin, 1992**).

Selon l'Organisation Mondiale de Gastroentérologie (**OMG**) en 2008, l'hépatite **chronique active** peut être définie par des transaminases élevées, Un ADN viral présent à un titre significatif, elle occasionne plus de cirrhoses car la durée de la maladie est plus longue.

C. Évolutions de l'infection par le VHB

L'infection de l'hépatite B peut évoluer vers selon **Goffard, 2012**:

- ✘ **Cirrhose** représente environ 20 % des évolutions naturelles des hépatites chroniques.
- ✘ **l'hépatocarcinome** : le virus de l'hépatite B est un puissant carcinogène.

La vaccination contre le VHB, entraîne une diminution de la fréquence d'apparition de carcinomes hépatocellulaires (CHC).

I.3.1.5-Traitement et prévention

Il n'existe pas de médicaments permettant de traiter une hépatite aiguë pour améliorer les chances de guérison (**Goffard, 2012**), Le traitement des hépatites chroniques virales repose essentiellement sur l'interféron alpha (**Marcellin, 2004**), pour but d'arrêter la réplication virale (**Catrice, 2009**), afin de prévenir l'évolution vers la cirrhose et le carcinome hépatocellulaire (**Vochelle et al.,2007**), On obtient une réponse virologique (disparition de l'ADN viral, disparition HBeAg) dans environ 40% des cas, avec normalisation des transaminases et amélioration histologique (**Segondy, 2005**).

La prévention repose sur la vaccination avec de l'antigène HBs purifié du sang de sujets porteuses chronique ou obtenu par recombinaison génétique (**Fleury, 1993**), Il faut vacciner les personnels de santé, les personnes à risque (hémodialysés, greffés, toxicomanes, personnes à partenaires sexuels multiples) nouveau-nés de mères AgHBs⁺ (**Goffard, 2012**).

I.3.2-Hépatite virale C

La découverte successive du virus de l'hépatite B puis du virus de hépatite A, au cours des années 1960-1970 a permis d'identifier un groupe d'hépatites transmissibles à l'homme et au chimpanzé dont les caractéristiques épidémiologiques et cliniques pouvaient les rapprocher des hépatites virales A et B. Le terme provisoire d'hépatites « non A- non B » avait été proposé et la recherche de l'agent causal faisait l'objet de nombreux travaux. Après l'utilisation des techniques modernes de biologie moléculaire a permis l'identification de virus responsable de la majorité des hépatites non A – non B à transmission parentérale c'est le virus de l'hépatite C en 1989 par les chercheurs de la firme Californienne "Chiron"(**Pawlostky et Lunel, 2004**).

I.3.2.1-Structures virale

Le VHC est un petit virus à ARN; enveloppé de 55 à 65 nm de diamètre appartient à la famille de *flaviviridae*, L'ARN viral est contenu dans une capsidie protéique (C) à symétrie icosaédrique, elle-même située dans une enveloppe lipidique dans laquelle sont insérées les protéines virales spécifiques E1 et E2 (**Penin, 2003**).

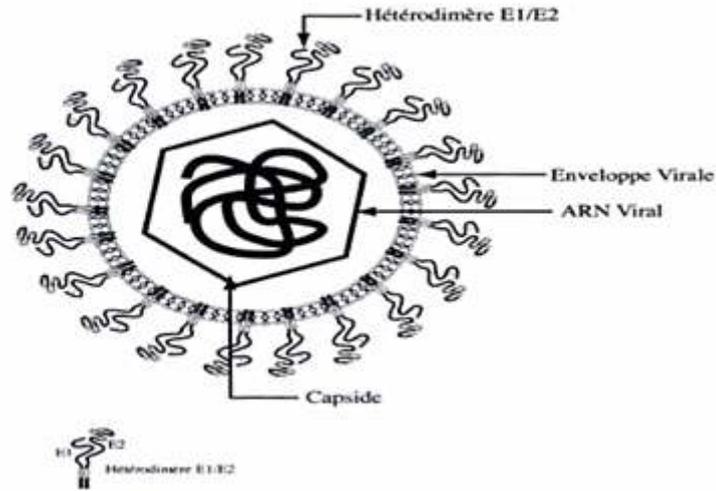


Figure 05: structure schématique de la particule virale VHC (Paul et Dominique, 2003)

➤ **génomé virale**

Le génome du VHC est constitué d'un ARN monocaténaire, de polarité positive, d'une taille de 9600 nucléotides environ. Les régions non codantes (NC) situées aux extrémités 5' et 3' du génome encadrent une phase de lecture unique qui code une poly-protéine de 3000 acides animés environ (Paul et Dominique, 2003).

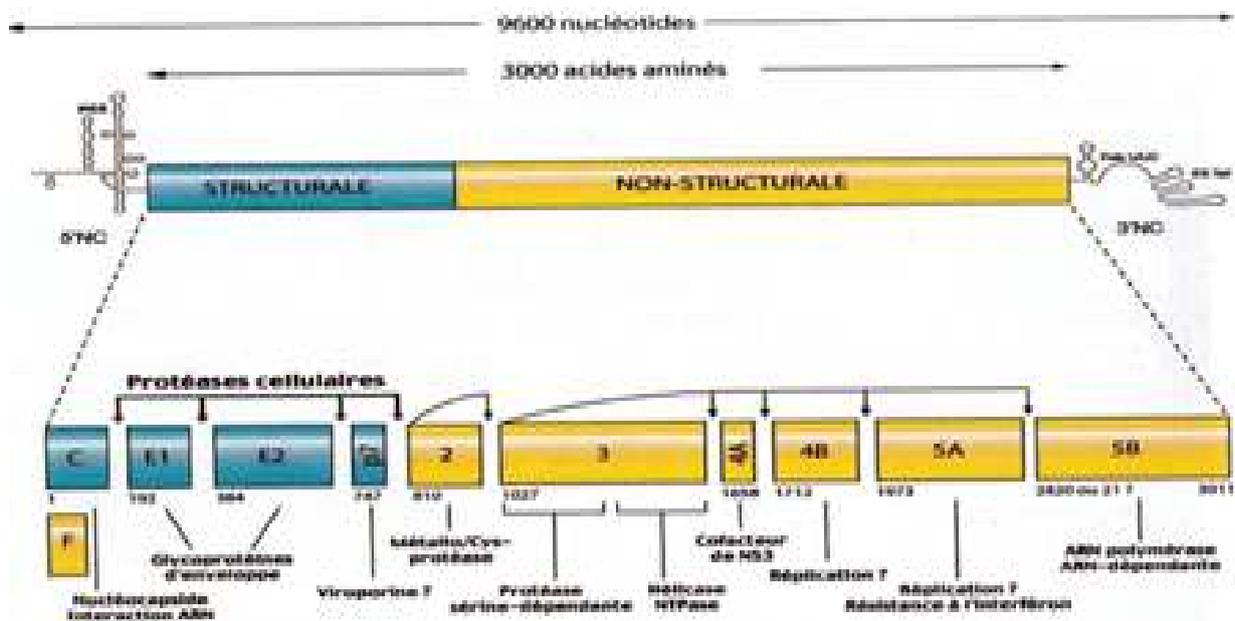


Figure 06: Organisation génomique du VHC et protéines virales (Roingard et *al.*, 2004)

I.3.2.2-Epidémiologie

Depuis la mise au point des moyens de dépistage du VHC, des études prospectives et même rétrospectives ont permis d'étudier le virus dans l'espace (Esteba *et al.*, 1990; kew *et al.*, 1990). On sait aujourd'hui que le virus est ubiquitaire, avec une prédominance dans certaines pays industrialisés (Snou *et al.*, 1992).

La prévalence moyenne du VHC dans le monde est de 3% (soit 170 million de personnes infectées) (Traore, 2005).

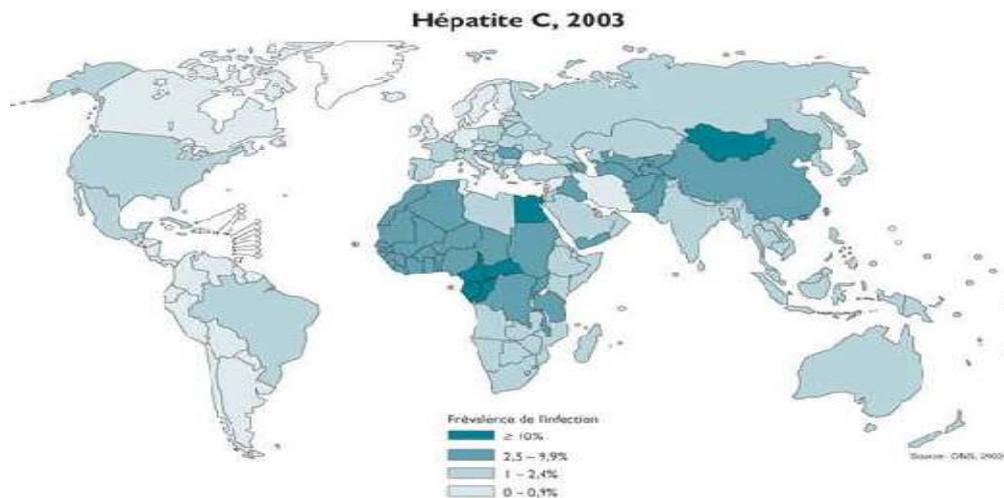


Figure 07: carte de distribution géographique du VHC dans le monde (OMS, 2003)

I.3.2.3-Modes de transmission

La transmission du VHC se fait par voie parentérale, Le mode majeur de transmission est le contact direct avec le sang, ce mode de transmission comprend les transfusions sanguines non contrôlées, les transplantations d'organes, l'usage de drogue intraveineuse avec partage de seringues, les transmissions nosocomiales et certaines pratiques sociales et culturelles (tatouage, piercing, circoncision). Le risque de transmission par voie sexuelle est très faible, la transmission materno-foetale ou verticale a été observée (Kiyoswa *et al.*, 1994). Une co-infection par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) favoriserait la transmission du VHC. D'autres maladies sexuellement transmissibles joueraient aussi un rôle de cofacteurs pour la transmission du VHC (Thomas, 2000).

I.3.2.4-Clinique

A. L'hépatite aiguë: La contamination par le VHC est suivie par l'apparition d'une hépatite aiguë après un délai d'incubation de 4 à 12 semaines. Le premier marqueur de

l'infection par le VHC est l'apparition de l'ARN viral avec augmentation des transaminases sériques (elles sont souvent supérieures à 10 fois la normale). Les anticorps VHC apparaissent dans le sérum 20 à 150 jours après la contamination. L'infection aiguë par le VHC est cliniquement inapparente dans la plupart des cas, seuls 10% des patients présentent des symptômes. La forme symptomatique se caractérise par un ictère, une asthénie, Des nausées, des vomissements, des myalgies, de la fièvre et des douleurs de l'hypocondre droit **(Grando et Trinchet, 2003)**.

La guérison avec éradication du virus se voit dans 20 à 30 % des cas, elle est plus fréquente en cas d'hépatite aiguë asymptomatique (50% des cas) **(Naveau et Bilian, 2003)**. Dans 60 à 80 % des cas, l'hépatite aiguë ne conduit pas à l'élimination du virus et le malade développe une infection chronique **(Mammette, 2002)**.

B. Hépatite fulminante: le VHC ne semble pas capable d'induire d'hépatites fulminantes en absence de co-infection par un autre virus hépatotrope, il favorise leurs survenues en cas de co-infection avec le virus de l'hépatite B ou celui de l'hépatite A **(Huraux et al., 2003)**.

C. L'infection chronique: L'infection chronique est définie par la persistance de l'ARN du VHC détectable dans le sérum pendant plus de 6 mois après l'hépatite aiguë. Les mutations apparues lors de la réplication du virus lui permettent d'échapper à la réponse immunitaire. Suite à l'agression virale, il se développe une réaction inflammatoire chronique, on parle d'hépatite chronique active. Ceci entraîne le développement d'une fibrose pouvant aboutir à la cirrhose. En cas de passage à la chronicité, les transaminases peuvent se normaliser ou rester discrètement ou modérément élevées, cependant, l'ARN viral reste détectable malgré une négativation transitoire dans certains cas **(Marcellin et al., 2004; Lejeune, 2006)**.

I.3.2.5-Traitement

A. Traitement préventif : La prévention contre l'hépatite virale C post transfusionnelle repose sur la recherche d'anticorps VHC chez les donneurs de sang, ce test élimine probablement un nombre important de produits sanguins transmetteurs du virus d'hépatite C, un dépistage positif en technique ELISA doit être complété par un test de confirmation, le dosage de l'alanine aminotransférase sérique (ALAT) consiste à dépister les sujets à la phase précoce de VHC **(Genetet et al., 1991)**.

- **Vaccin:** Le virus est très hautement variable et développe rapidement des mutations qui les rendent résistant au système immunitaire (**Lefrère, 1998**).

B. Traitement curatif : Le traitement a pour but d'éliminer le virus et d'améliorer l'état du foie; il repose sur des traitements spécifiques:

Lors de la phase aiguë: Le traitement par interféron alpha permet de multiplier la réponse immunitaire. Actuellement l'hépatite aiguë doit être traitée lorsque l'ARN du virus C devient positif au cours d'un accident d'exposition au virus C (**Gouban et Pellegrins, 2000**).

Lors de la phase chronique: Le traitement de l'hépatite C chronique était initialement limité à l'interféron alpha en monothérapie mais moins de 20% des patients établissaient une réponse virologique durable. Aujourd'hui il repose sur l'association de deux molécules: l'Interféron alpha pégylé (Pegasys[®] et ViraferonPeg[®]) et la Ribavirine (Copegus[®] et Rebetol[®]), ce qui a permis d'augmenter considérablement la réponse virologique soutenue (**Pawlotsky et Lunel, 2004**).

I.4-TESTS DE DEPISTAGE DES HEPATITES VIRALES B ET C

I.4.1-Dosage radio-immunologique (RIA)

C'est la méthode la plus sensible, tant par le dépistage de l'antigène (Ag) que pour le dépistage de l'anticorps (**Genetet, 2002**).

I.4.2-Hémagglutination

Cette technique est très utilisée pour la recherche de l'anticorps dirigés contre les antigènes constitutifs d'une membrane cellulaire ou fixés artificiellement sur une cellule ou une particule, lorsque ces anticorps ne sont pas agglutinants directement (**Genetet, 2002**).

I.4.3-Dosage immuno-enzymatique

Comporte le test Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay est un test immuno enzymatique rapide et sensible pour la détection de l'antigène de surface du virus de l'hépatite B dans le sérum ou le plasma humain (**Genetet, 2002**); ou fondés sur l'utilisation de microplaques ou de billes de polystyrène couvertes d'antigènes viraux pour détecter Les anticorps anti-VHC dans le sérum ou le plasma (**Gretch, 1997**).

Cette méthode comporte 03 types :

- ELISA sandwich
- ELISA indirecte
- ELISA compétitive

I.5-TESTS BIOCHIMIQUES COMPLEMENTAIRES

Le bilan hépatique permet d'apprécier le retentissement du virus sur le fonctionnement du foie. Les principaux dosages que nous avons réalisés sont le dosage des paramètres biochimiques

Les transaminases (ALAT et ASAT).

Les phosphatases alcalines (PAL).

La bilirubine.

I.5.1-Les transaminases

Les transaminases sont deux enzymes qui assurent le transfert de groupements aminés à partir de deux acides aminés (l'alanine et l'acide aspartique) pour former deux autres (les acides pyruvique et oxalo-acétique), Il s'agit de:

- **L'alanine amino transférase (ALAT)**, anciennement dénommée Sérum Glutamo Pyruvique Transférase (TGP), est d'origine essentiellement hépatique accessoirement musculaire.
- **L'aspartate amino transférase (ASAT)**, anciennement dénommée Sérum Glutamo-Oxaloacétate Transférase (TGO), est trouvée dans le myocarde, les muscles, les reins, le cerveau mais également le foie.

En cas d'atteinte hépatique l'augmentation prédomine souvent sur les ALAT (**Buffet et Pelletier, 1994**)

I.5.2-Phosphatase alcaline (PAL)

Cette enzyme est présente dans toutes les membranes biologiques ; mais l'activité phosphatase alcaline du sérum est du surtout au passage d'isoenzyme pouvant être distingués par leurs propriétés électrophorétiques (**Gerolami, 1990**)

La régénération du parenchyme hépatique est aussi associée à une élévation de PAL sérique; dans ces deux cas l'isoenzyme est évidemment du type hépatique (**Hennen, 1996**).

I.5.3-Bilirubine

C'est un pigment jaune présent dans la bile, le sérum sanguin et les excréments ; est un produit de la dégradation de l'hème elle donne à la bile hépatique sa couleur jaune brunâtre (**Doré, 1994**).

En cas de cytolysse hépatique la bilirubine totale est élevée (**Benhamou, 1987**).

Notre étude a été réalisée au niveau de point de transfusion sanguine (PTS) et laboratoire central de biologie secteur sanitaire de MEFTAH durant une période de mois (du mars au mai 2013). Pendant cette période, 290 donneurs ont été sélectionnés, par ailleurs une étude rétrospective est ajoutée et ceci pendant 9 mois afin d'augmenter l'effectif de notre échantillon et avoir des résultats d'une année. Au total 749 donneurs de sang ont été sélectionnés. L'étude a pour objet de dépister l'hépatite virale B et C chez les donneurs et doser quelques paramètres biochimiques (bilan hépatique) en cas de séropositivité, à fin d'écarter les poches séropositifs dans le but d'assurer la sécurité transfusionnelle.

II.1-Matériel

II.1.1-Matériel biologique

Cette étude réalisée sur 749 donneurs de sang répondant aux conditions suivantes :

- ✓ bénévoles.
- ✓ Adultes (âge compris entre 18 et 65 ans)
- ✓ Sains (ne présentent pas des contre indications médicales)
- ✓ Tension artérielle (11\8 - 16\9)
- ✓ Poids corporel (supérieur à 50 kg)

Un questionnaire a été soumis à tous les donneurs pour des renseignements cliniques (Annexe I).

II.1.2-Matériel non biologique

Le matériel non biologique utilisé concerne l'appareillage, matériel consommables de laboratoire, sont cités dans les annexes.

II.2-Méthodes

II.2.1-Prélèvement sanguin

La collecte de sang doit être faite au niveau de PTS fixe ou mobile. La fréquence des prélèvements ne doit pas être supérieure à 5 fois par an pour les hommes et 3 fois pour les femmes; avec un intervalle de 2 mois pour chaque don, la quantité de sang prélevée ne doit pas être supérieure à 450 ml. Le prélèvement a été effectué pour chaque donneur après un léger repas, dans des poches de sang. A partir de ces poches une quantité de sang est transférée dans des tubes héparinés afin de réaliser notre étude.

II.2.2-Traitement des échantillons

Les tubes héparinés sont centrifugés à 4000 tours/min, pendant 5 minutes, le plasma est récupéré pour la sérologie et la biochimie.

II.2.3-Technique de dépistage de l'hépatite virale B

Nous avons utilisé la technique immuno-enzymatique (ELISA) pour la détection qualitatif de l'antigène de surface de l'hépatite virales B dans le plasma humain.

Les marqueurs (antigène HBe et AC anti HBc) n'ont pas été recherchés, parce qu'ils sont recherché dans le suivi des hépatites chroniques et ceci n'était pas le but de notre travail.

II.2.3.1-Principe ELISA sandwich

La technique utilisée est une technique immuno-enzymatique de type «sandwich », La phase solide de **BIOLOGIX HBs Ag EIA KIT** est constituée de 12 barrettes de 8 cupules en polystyrènes, qui contient anticorps anti HBs purifiée dirigée contre l'antigène HBs, et deuxième AC conjugué à la peroxydase (converti le substrat en composant fluorescente), après incubation l'antigène HBs présent dans l'échantillon il forme un complexe anticorps-antigène-enzyme dans la cupule. Après lavage une solution de substrat est ajoutée dans les cupules qui contient l'antigène HBs se lient au conjuguée puis développé une couleur bleu devient jaune quand on ajout la solution d'arrêt (acide sulfurique).

II.2.3.2-Mode opératoire

- ✓ Préparation de la solution de lavage : dilution de 1\20 de solution de lavage dans l'eau distillé.
- ✓ Mettre 100 µl de contrôle négative dans les cupules A1; B1, et 100 µl de contrôle positif dans les cupules C1; D1. et 100 µl de plasma des échantillons dans les autres cupules.
- ✓ Distribuer 50 µl de conjugué dans chaque cupules par la solution de lavage diluée.
- ✓ Recouvrir la microplaque par un film adhésif est incubé pendant 1 Heurs (h) à 37 °C.
- ✓ Après incubation, effectuer un lavage de 5 fois.
- ✓ Ajouter 50 µl de substrat « hydrogène de péroxyde » puis 50 µl de substrat « tétrat méthyl benzoïque » dans chaque cupule.
- ✓ Recouvrir par un film adhésif et incubé pendant 15 minutes (mn) à 37 °C.
- ✓ Après incubation, ajouter 50 µl de solution d'arrêt (l'acide sulfurique) dans chaque cupule.

- ✓ Après 10 mn, nous lisons la densité optique de chaque cupule à 450 nm.

II.2.3.3-Calcul et interprétation des résultats

➤ Calcul de la valeur seuil ou Cut-off :

La C.O est calculé selon la formule suivante:

$$\text{Cut-off (c.o)} = *Nc + 0.07$$

*Nc: la moyenne de la DO des 2 contrôles négatifs

➤ Interprétation des résultats :

Les échantillons dont la densité optique (DO) est:

- ❖ inférieure à la c.o: sont considérés comme des résultats négatifs donc ne contiennent pas l'Ag Hbs.
- ❖ supérieurs ou égale à la c.o: le test doit se refaire deux ou trois fois, s'il est toujours positif, les échantillons sont considérés comme des résultats positifs donc soit contiennent l'Ag Hbs ou il ya un facteur de réaction non spécifique.

Dans le cas des résultats positifs est confirmer par la technique PCR au niveau de l'institut Pasteur.

II.2.4-Technique de dépistage de l'hépatite virale C

Nous avons utilisé la technique immuno-enzymatique (ELISA) pour la détection qualitatif des anticorps de l'HCV dans le sérum ou le plasma humain.

II.2.4.1-Principe d'ELISA indirect

La technique utilisée est une technique immuno-enzymatique de type « indirect ». La phase solide de BIOLOGIX EIA Test Kit est constituée de 12 barrettes, de 8 cupules en polystyrènes, sensibilisée par des antigènes de synthèse spécifique de HCV, le recouvrement des puits par les échantillons de plasma à tester .nous effectuons un lavage pour éliminer tout les constituants de l'échantillon. L'ajout aux puits des anticorps secondaires qui se lient à l'anticorps primaire, Ces anticorps secondaires sont couplés à l'enzyme modificateur de substrat qui permet de suivre l'évolution de la réaction. Après lavage nous ajoutons une solution de substrat, si l'échantillon contient l'Ac HCV il se forme un complexe Ag-Ac, pour arrêter la réaction enzymatique nous ajoutons la solution d'arrêt, et lire la densité optique à la longueur d'onde 450nm.

II.2.4.2-Composition de coffret BIOLOGIX HCV antibody EIA Test Kit

La composition de chaque réactif de coffret est citée dans les annexes.

II.2.4.3-Mode opératoire

- ✓ Préparation de solution de lavage.
- ✓ Mettre 100 µl de diluant dans toutes les cupules.
- ✓ Distribuer 10 µl de contrôle négatif dans les cupules A1 B1, 10 µl de contrôle positif dans les cupules C1, D1 et 10 µl de plasma dans les autres cupules.
- ✓ Recouvrir la microplaque par un film adhésif et incuber pendant 30mn à 37°C.
- ✓ Après incubation, effectuer un lavage de 05 fois par la solution de lavage.
- ✓ Ajouter 100 µl d'AC conjugué dans chaque cupule.
- ✓ Recouvrir la microplaque par film adhésif et incuber pendant 30 mn à 37°C.
- ✓ Répéter le lavage 5 fois par la solution de lavage.
- ✓ Distribuer 50 µl de substrat « A » et 50 µl de substrat « B » dans chaque cupule.
- ✓ Recouvrir par un film adhésif et incuber pendant 15 mn à 37°C.
- ✓ Ajouter 50 µl de solution d'arrêt dans chaque cupule.
- ✓ Lire la densité optique (DO) à la longueur d'onde 450 nm.

Note : la DO doit se lire dans les 30 mn qui suite l'addition de solution d'arrêt.

II.2.4.4-Calcul et interprétation des résultats

Calcul de valeur seuil ou Cut-off

La C.O est calculé selon la formule suivante:

$$\text{Cut-off (c.o)} = \text{NCx} + 0,145$$

NCx: la moyenne de la DO des 2 contrôles négatifs

Interprétation des résultats :

Les échantillons dont la densité optique (DO) est:

- ❖ inférieure à la C.O: sont considérés comme des résultats négatifs donc ne contiennent pas l'AC HCV.
- ❖ supérieure ou égale à la C.O: le test doit se refaire deux ou trois fois. Après répétitions du test, si l'absorbance est inférieure à la c.o le résultat initiale est non reproductible et l'échantillon est déclarer négatif, si l'absorbance est

toujours supérieure ou égale à la c.o, l'échantillon est déclaré positif donc soit contient l'Ac HCV ou il ya un facteur de réaction non spécifique.

Dans le cas des résultats positifs est confirmer par la technique PCR au niveau de l'institut Pasteur.

II.2.5-Tests biochimiques complémentaires

L'Objectif de ces tests est de doser certaines enzymes et autres paramètres en relations avec les hépatites virales telle que :

- ❖ La phosphatase alcaline (PAL)
- ❖ Les transaminases (ASAT et ALAT)
- ❖ La bilirubine directe (BD) et totale (BT)

Chez les patients infectés par le virus d'hépatite B après un test de confirmation, et des donneurs (séronégative) sains qui sont considérés comme des témoins.

II.2.5.1-Échantillonnage

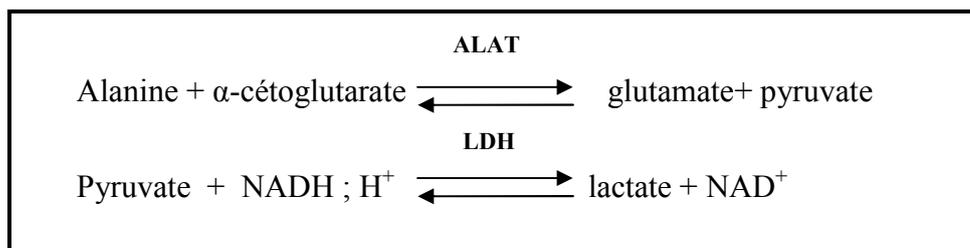
Les échantillons ont été prélevés chez des donneurs de sang qui étaient infectés par le VHB et des témoins de PTS.

II.2.5.2-Bilan hépatique

A. Dosage des transaminases

❖ ALAT (GPT)

Principe : Alanine aminotransférase catalyse le transfert réversible du groupement amine (NH_2) de l'alanine sur α -cétoglutarate pour former le glutamate et le pyruvate. Le pyruvate produit est réduit en lactate par la lactate déshydrogénase (LDH) en présence du NADH :



On mesure la vitesse de disparition du NADH à 340 nm qui est proportionnelle à l'activité catalytique de l'ALAT.

Mode opératoire :

1-conditions du lecteur :

Épaisseur de la cuve : 1cm

Température : 37°C

2-régler le zéro de l'instrument sur l'eau distillé.

3-introduire dans des tubes à essais :

Réactif du travail 1ml

Echantillon 100µl

4-agiter, incuber pendant 1min à température 37°C .

5-lire l'absorbance initiale (A) de l'échantillon, puis lire l'absorbance à 1 min puis à 3 min.

Calculs

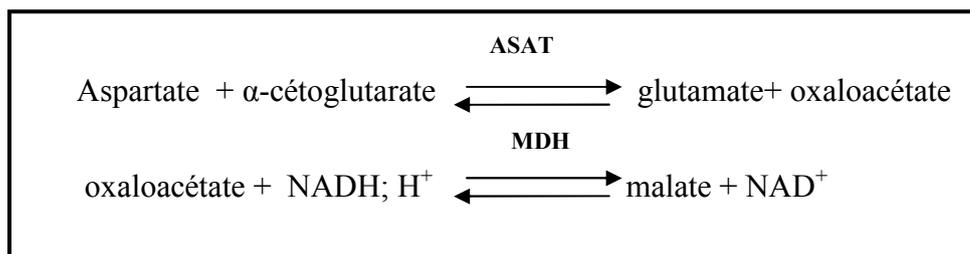
$$\Delta A_{340}/\text{min} \times F = \text{UI} / \text{L} \quad F=1750$$

Valeurs de référence: Homme 40 UI/L Femme 32 UI/L

❖ ASAT (GOT)

Principe : l'Aspartate aminotransférase catalyse le transfert réversible du groupement amine NH₂ de l'aspartate sur α-cétoglutarate pour former le glutamate et l'oxaloacétate .

L'oxaloacétate produit est réduite en malate par le malate déshydrogénase (MDH) et NADH.



L'activité catalytique de l'ASAT est déterminée par la mesure de la vitesse de disparition du NADH à 340 nm

Stabilité de l'échantillon : sérum ou plasma est stable 7 jours à 2-8°C.

Mode opératoire :

1-conditions du lecteur :

Épaisseur de la cuve 1cm

Température 37°C

2-régler le zéro de l'instrument sur l'eau distillé.

3-introduire dans des tubes à essais :

Réactif du travail 1ml

Echantillon 100µl

4-agiter, incuber pendant 1min Température 37°C.

5-lire l'absorbance initiale (A) de l'échantillon, puis lire l'absorbance à 1 min puis pour 3 min.

Calculs

$$\Delta A_{340}/\text{min} \times F = \text{UI/L} \quad F=1750$$

Valeurs de référence: Homme 38 UI/L Femme 31 UI/L

B. Dosage de PAL

Principe : en milieu alcaline et sous l'action des phosphatases alcalines le p-nitrophénylphosphate est hydrolysé en p-nitrophénol et phosphate.

La vitesse d'apparition du p-nitrophénol suivi par la variation de l'absorbance à 405nm est proportionnelle à l'activité de phosphatase alcaline.



Stabilité de l'échantillon: sérum ou plasma est stable 3 jours à 2-8°C.

Mode opératoire:

1-conditions du lecteur:

Épaisseur de la cuve 1cm

Temperature 37°C

2-régler le zéro de l'instrument sur l'eau distillé.

3-introduire dans des tubes à essais:

Réactif du travail 1.2ml

Echantillon 20µl

4-agiter, incuber pendant 1min.

5-lire l'absorbance initiale (A) de l'échantillon, puis lire l'absorbance à 1 min puis pour 3 min.

Calculs

$$\Delta A_{405}/\text{min} \times F = \text{UI/L} \quad F=3300$$

Valeurs de référence:

Adulte: 98-279 UI/L

C. Dosage de la Bilirubine Totale et Directe

Principe : la bilirubine directe présente dans l'échantillon réagit avec l'acide sulfanilique diazoïque pour donner un complexe coloré qui peut être quantifié par spectrophotométrie.

Le diméthylsulfoxyde (DMSO) solubilise la bilirubine indirecte, on permettant ainsi sa réaction au même temps que la fraction directe. Les termes « directe et totale » se rapportent aux caractéristiques de réaction en présence ou l'absence de solubilisant (l'accélérateur).

La bilirubine «directe et indirecte» équivalent seulement d'une manier approximative, aux fractions conjugué et non conjugué.

Stabilité de l'échantillon : La bilirubine est stable de 2-8°C pendant 4 jours

Mode opératoire :

1-conditions du lecteur :

Longueur d'onde 540nm

Épaisseur de la cuve 1cm

Temperature 15-25°C

2-régler le zéro de l'instrument sur l'eau distillé.

3-introduire dans une cuvette:

	Blanc	BT	Blanc	BD
R 1 (D) (ml)	--	--	1.5	1.5
R 2 (T) (ml)	1.5	1.5	--	--
R 3 (µL)	--	50	--	50
Echantillon (µl)	100	100	100	100

4-Mélanger et incuber pendant 5 minutes à 15-25 ° C.

5. Lire l'absorbance (A).

Calculs

Le calcul du taux de la bilirubine comme suit :

$$\text{Bilirubine (mg/dl)} = (\text{Abs Echant.} - \text{Abs Echant. Blanc}) \times \text{facteur}$$

Facteur théorique: Bilirubine totale : 19,1

Bilirubine directe : 14

Facteur de conversion: mg/dl x 17,1 = $\mu\text{mol/l}$

Valeurs de référence

Bilirubine Total = 1.10 mg\dl $\approx 18.81 \mu\text{mol/l}$

Bilirubine Direct = 0.25 mg\dl $\approx 4.27 \mu\text{mol/l}$

III.1-Résultats sérologiques

Cette étude nous a permis d'avoir les résultats suivant :

III.1.1-Répartition des donneurs selon le sexe

La répartition des donneurs en fonction de sexe est représentée dans figure 8 et le tableau IV (annexe VI)

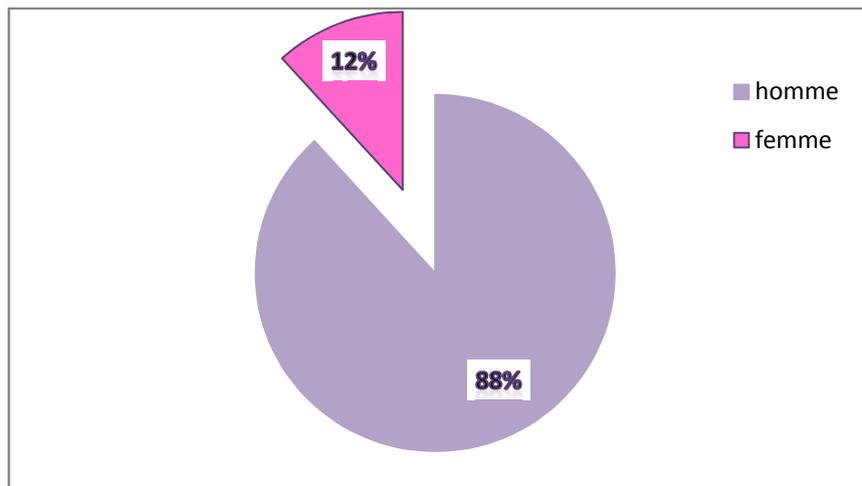


Figure 08: Répartition des donneurs selon le sexe.

D'après la représentation graphique des donneurs de sang en fonction de sexe ; on remarque une prédominance du sexe masculin (88%) contre 12% de sexe féminin (figure 08) avec un sexe ratio H/F de 7,52.

La prédominance masculine est aussi retrouvée par **Dembélé (1999)**, **Guindo (2003)** et **Tangara (2004)** qui ont signalé que les donneurs sont majoritairement de sexe masculin. Ceci pourrait être lié aux conditions socio-culturelles de notre pays et aussi probablement aux multiples contre indications au don de sang chez les femmes (allaitement, menstruation et gestation).

III.1.2-Répartition des donneurs selon les tranches d'âge.

La répartition des donneurs selon les tranches d'âge est représentée dans figure 9 et le tableau V (annexe VI)

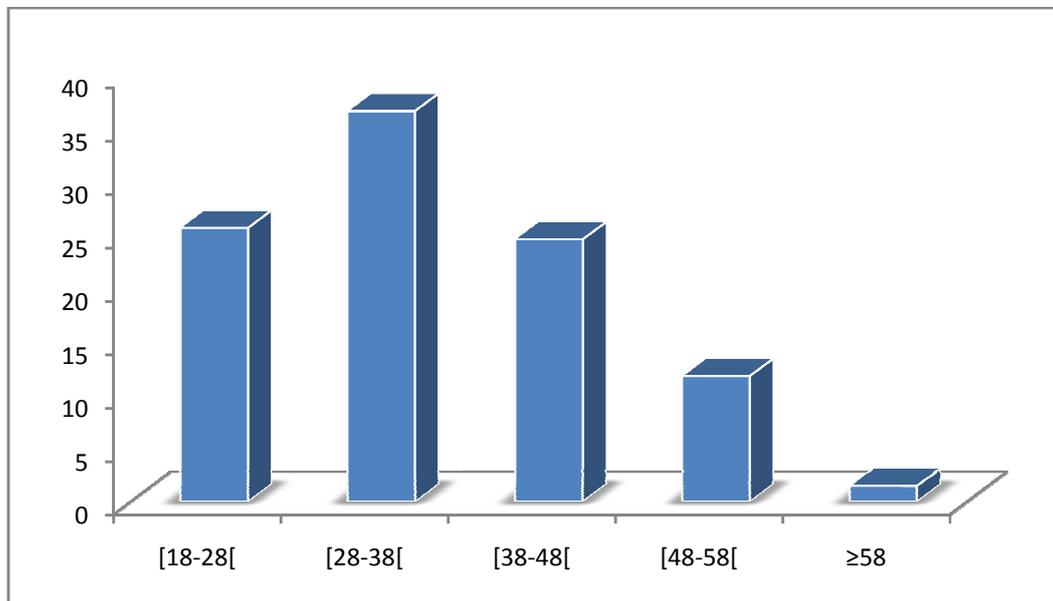


Figure 09: Distribution des donneurs selon les tranches d'âge.

On remarque d'après cette figure que le pourcentage des donneurs le plus élevé (36,58%) sont des donneurs de tranche d'âge [28-38[ans; suivie de 25,64 % et 24,57% dans les tranches d'âge [18-28[et [38-48[ans, pour la tranche d'âge de [48-58[ans le pourcentage est faible (11,75%), alors que celle de ≥ 58 ans n'est que de 1,46% seulement.

Nos résultats sont comparables à celle de **Sarro (2002)** et **Tangara (2004)** qui ont trouvé que les donneurs de sang sont majoritairement âgés de 18 à 39 ans; Ceci pourrait être due à fait que la plupart des donneurs sont des universitaires; en effet notre recrutement vise principalement les enseignants, les étudiants et les professions des sociétés et certain corps comme la police.

III.1.3-Répartition des donneurs en fonction des résultats sérologiques

La répartition des donneurs en fonction des résultats sérologique est représentée dans figure 10 et le tableau VI (annexe VI)

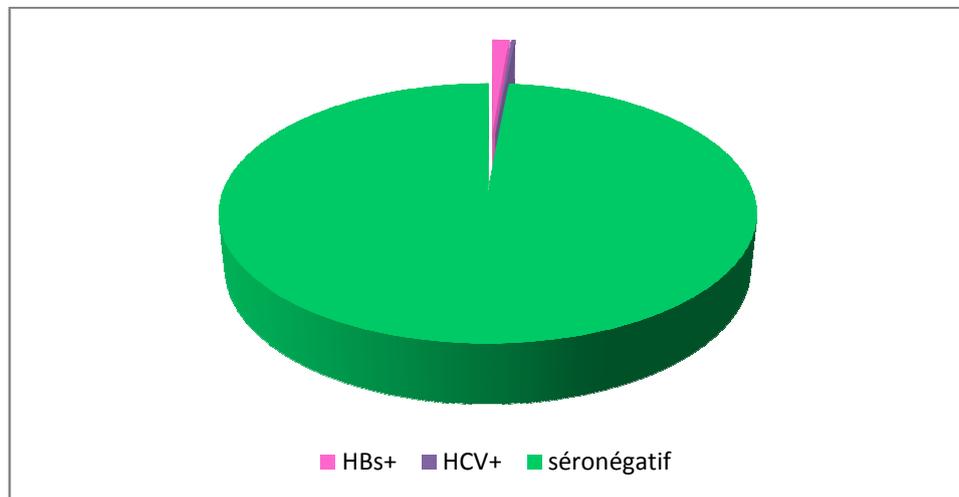


Figure10 : Répartition des donneurs en fonction des résultats sérologiques.

D'après la figure10 ont remarque que 98,53 % des donneur ont une prévalence négative pour les hépatites virale (B et C), avec une faible prévalence (1,2%) de virus d'hépatite virale B (HBs) et une très faible prévalence (0,27%) de virus d'hépatite virale C.

Pour la prévalence de HCV :

Nos résultats sont comparables avec les résultats **Ayed et Honinato (1995)** qui ont trouvé que la prévalence de HCV est 0,18% chez les donneurs de sang. Deux autres études sur 1000 donneurs, ont trouvé une prévalence de 0,75% (**Aïnas ,2009**) en Tizi-ouzou et de 1,10% (**Institut National de la Transfusion Sanguine ,1993**) en France. La prévalence de HCV est plus élevée chez les patients dialysés que dans la population générale (**Dussol, 2005**)

Pour la prévalence de HBS :

Nos résultats sont comparables avec les données de l'**OMS** qui a noté que la France est un pays considéré comme ayant une prévalence faible (<2%) de l'HBV, le nombre de cas intrafamiliaux élevé suggèrent une transmission horizontale importante dans la population et celle de **Dénis (2004)** qui a signalé que la prévalence de HBV est inférieure à 2%. Deux autres études sur 1000 donneurs, ont trouvé une prévalence de (1, 2%) (**Aïnas, 2009**) et de 0.38% (**INTS, 1993**) en France.

III.1.4-Répartition des donneurs séropositifs pour HBV et HCV selon le sexe.

La répartition des donneurs séropositifs pour HBV et HCV en fonction de sexe est représentée dans figure 11 et le tableau VIII (annexe VI)

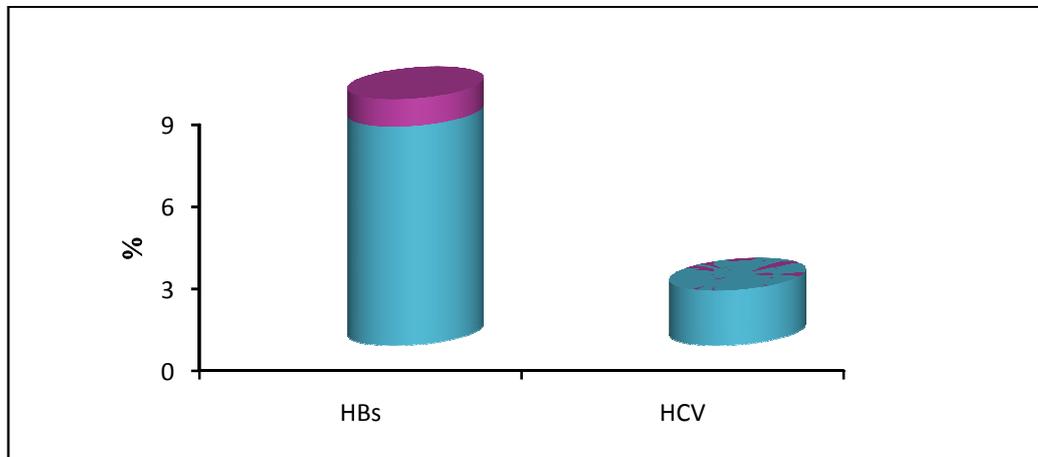


Figure 11: Répartition des donneurs séropositifs pour HBV et HCV selon le sexe.

D'après la figure 11 on remarque que le pourcentage des donneurs séropositifs pour HBV est plus élevé (88,88%) chez les hommes par contre le virus de l'hépatite C est retrouvé seulement chez la population masculine. Cette prédominance masculine est observée dans les deux types des hépatites virales, ces résultats concordent avec ceux obtenus par **Marcellin et al (2008)** sur une population des donneurs française dont le sexe ratio H/F est de 2,3.

Pour la prévalence de HBS selon le sexe

Le nombre des cas séropositifs d'HBV est plus fréquent chez les hommes (08 cas), que les femmes (1 seul cas) ces résultats est comparable avec les résultats de **Bernard et al., (2005)** qui signalé que les hommes sont plus fréquents porteurs que les femmes ; ceci du probablement au comportement sexuel des hommes par rapport aux femmes.

Selon **Eyquem et al., (1983)**: lors des premiers examens effectués par **Blumberg** dans les îles de philippine; l'atteint préférentielle du sexe masculin avait été noté, de même les hommes étaient plus nombreux que les femmes.

Pour la prévalence de HCV selon le sexe

Concernant la séropositivité en HCV nous constatons que (0,27%) hommes sont infectés par le virus d'hépatite C. Ces résultats sont en accord avec ceux de **Dembélé (1999)** qui a trouvé une séoprévalence de 6,52% chez les hommes contre 3,34% chez les femmes au CNTS de Bamako.

III.1.5- Répartition des donneurs séropositifs pour HBV et HCV selon les tranches d'âge

La répartition des donneurs séropositifs pour Hbs et HCV selon les tranches d'âge est représentée dans figure 12 et le tableau X (annexe VI)

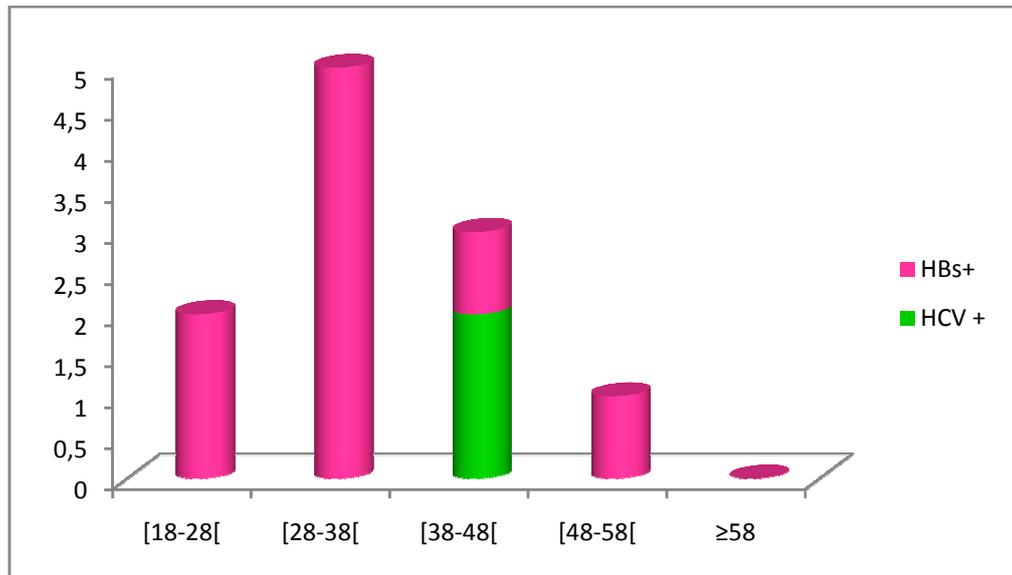


Figure12:répartition des donneurs séropositifs pour Hbs et HCV selon les tranches d'âge.

D'après cette figure on remarque que presque tous les tranches d'âge sont touchées par le HBV avec une prédominance dans la tranche d'âge comprise entre [28-38[ans .par contre le VHC touchées seulement la tranche d'âge [38-48[ans.

Les résultats obtenu sont parallèles à ceux de **Denis (2004)** qui a noté que La contamination survient surtout à l'âge adulte et **Bernard et al (2005)**, qui montrent que les virus des hépatites virale est présent chez les personnes de tout âge.

A la lumière de ces résultats, nous pouvons retenir que la population jeune est plus exposé aux infections par les virus de l'hépatite virale B et C, ceci du probablement au rapport sexuel non protégé, les soins dentaire, toxicomanie et le tatouage. Le coiffeur (pour les hommes), partage des affaires de toilette, piqure d'aiguille (surtout pour le corps paramédicale de l'hôpital).

III.2-Résultats biochimiques

III.2.1-Variation de taux des phosphatases alcalines chez les donneurs

Variation de taux des phosphatases alcalines chez les donneurs est représentée dans la figure13 et le tableau XIII (annexe VI)

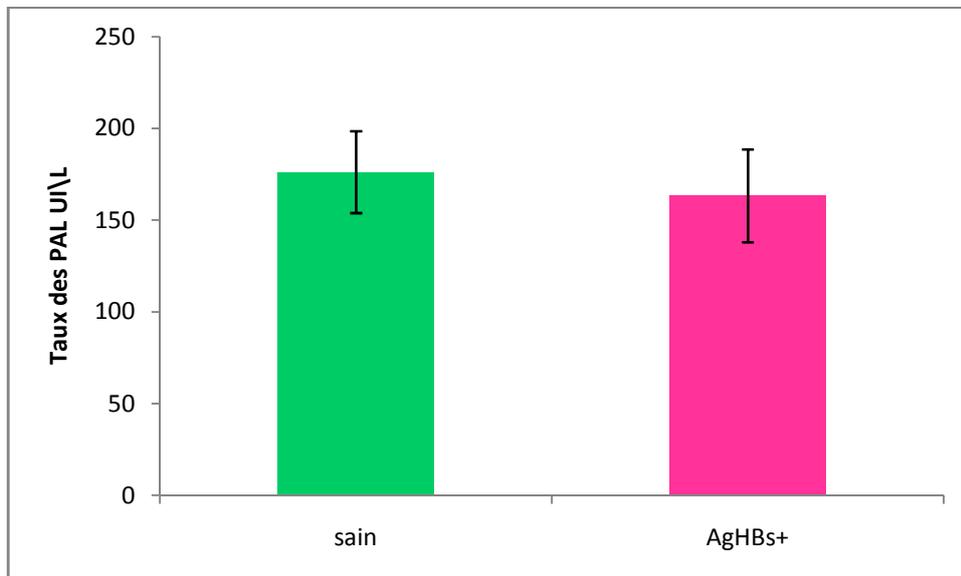


Figure13: Variation de taux des phosphatases alcaline chez les donneurs

Par l'interprétation de cette figure et la comparaison entre les moyennes de phosphatase alcaline (PAL) des donneurs sains ($176,2 \pm 22,31$) et Hbs⁺ ($163,2 \pm 25,32$), on observe que les moyennes des PAL appartiennent aux normes (98-279UI/L) malgré l'existence de l'infection virale B. Nos résultats montrent qu'il n'y a pas de perturbation de PAL au cours des infections par l'hépatite virale B. Ce qui suggère que dosage de PAL seul ne suffit pas pour conclure la présence d'une hépatite virale B. On constate donc que la phosphatase alcaline n'est pas affectée chez les donneurs ayant l'hépatite virale B. Ce qui rejoint les données de **Marcellin (2004)** où la PAL est habituellement normale au cours des hépatites virales B.

III.2.2-Variation de taux des Bilirubine (direct et totale) chez les donneurs

Variation de taux des Bilirubine (direct et totale) chez les donneurs est représentée dans la figure 14 et le tableau XIV (annexe IV)

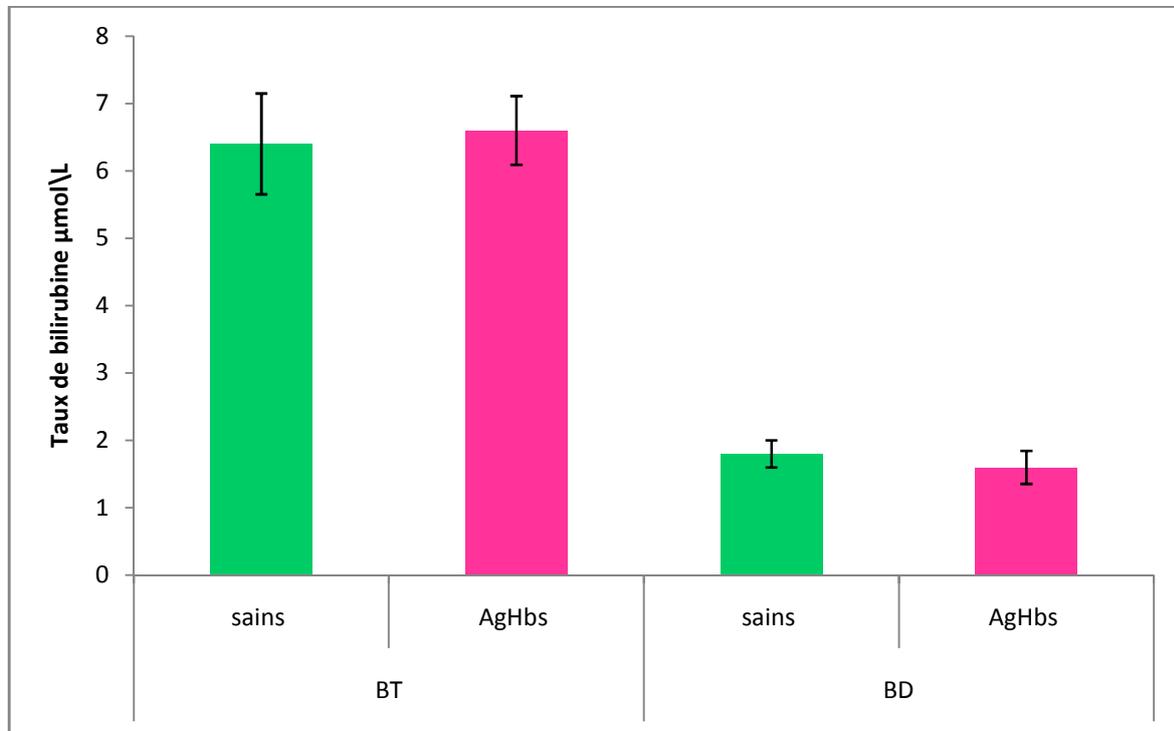


Figure14: Variation de taux des Bilirubine (direct et totale) chez les donneurs

La bilirubine (directe et totale), selon la représentation graphique se trouve en état normale, et les différences sont statistiquement non significative (test de student), elle est de 3,13% ($p=0,83$) pour la BT, et de 11,11% ($p=0,54$) pour la BD, malgré que les donneurs soient infectés par l'hépatite virale B. En effet pour la BT elle est de ($6,4 \pm 0,75 \mu\text{mol/L}$) Chez les donneurs sains et de ($6,6 \pm 0,51$) chez les donneurs Hbs+. Pour la BD elle est de ($1,8 \pm 0,2$) chez les donneurs sains et de ($1,6 \pm 0,2$) chez les donneurs Hbs+. On constat donc que la Bilirubine n'affect pas l'hépatite virale B. Ce qui suggère que le dosage de la bilirubine (direct et totale) ne suffit pas pour conclure la présence d'une hépatite virale B.

La bibliographie n'offre pas d'éléments de comparaison sur la bilirubine directe et totale.

III.2.3-Variation de taux des transaminases chez les donneurs

Variation de taux des transaminases chez les donneurs est représentée dans la figure 15 et le tableau XII (annexe VI)

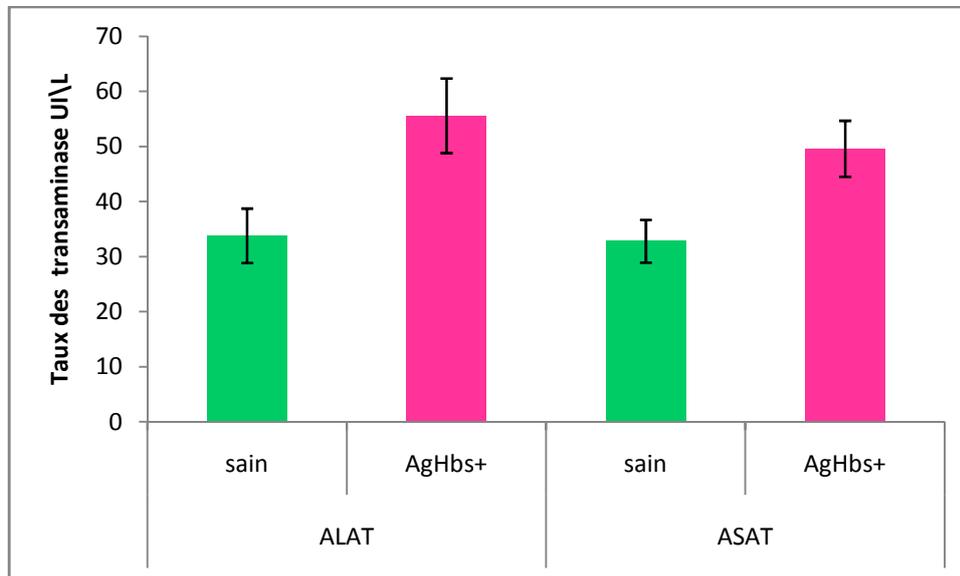


Figure 15:Variation de taux des transaminases chez les donneurs

On constate selon cette figure que les transaminases chez les donneurs Hbs⁺ est significativement élevé par rapport aux donneurs sains.

-Chez les donneurs sains le taux d'ASAT est ($32,8 \pm 3,88$ UI/L) par contre chez les donneurs Hbs⁺ est ($49,6 \pm 5,09$ UI/L) l'augmentation est donc de 64,50% ($P=0,031$).

Pour le taux d'ALAT chez les donneurs sains est ($33,8 \pm 4,94$). Par contre chez les donneurs Hbs⁺ est ($55,6 \pm 6,77$), avec une augmentation est de 51,22% ($P=0,030$).

Nos résultats montre que les moyenne de taux d'ALAT sont élevé par rapport au moyenne des taux élevée d'ASAT dans le cas d'hépatite virale B et cela concorde avec les travaux de **bascil et frexinoise (2004)** qui ont noté une élévation des transaminases, atteignant 20 à 40 fois la normale (en particulier de L'ALAT) dans le cas d'hépatite virale B ce qui confirme que L'ALAT augment dans la maladie de foie.

Selon **Doré (1994)** une hypertransaminasémie important qui est supérieur à 40UI/L est observée au cours des hépatites aigue et une élévation plus modérée se voit dans les hépatites chroniques virales.

- ✓ Par ailleurs nous avons noté une augmentation de taux des transaminases (ALAT et ASAT), cela rejoint les données bibliographiques de **Nilsen (1971)** que les patients qui présentent une hépatite par le virus B en relation avec augmentation permanente des aminotransférases, Cette augmentation de transaminase se traduit par l'apparition de la cytolyse.

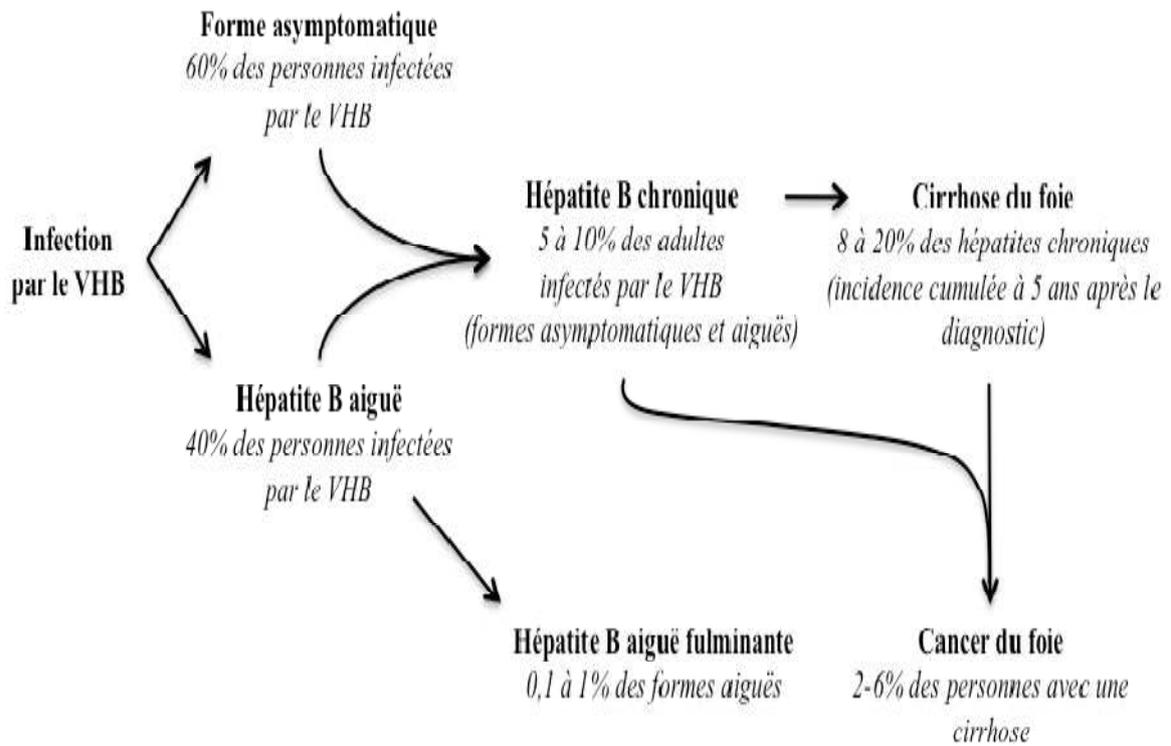
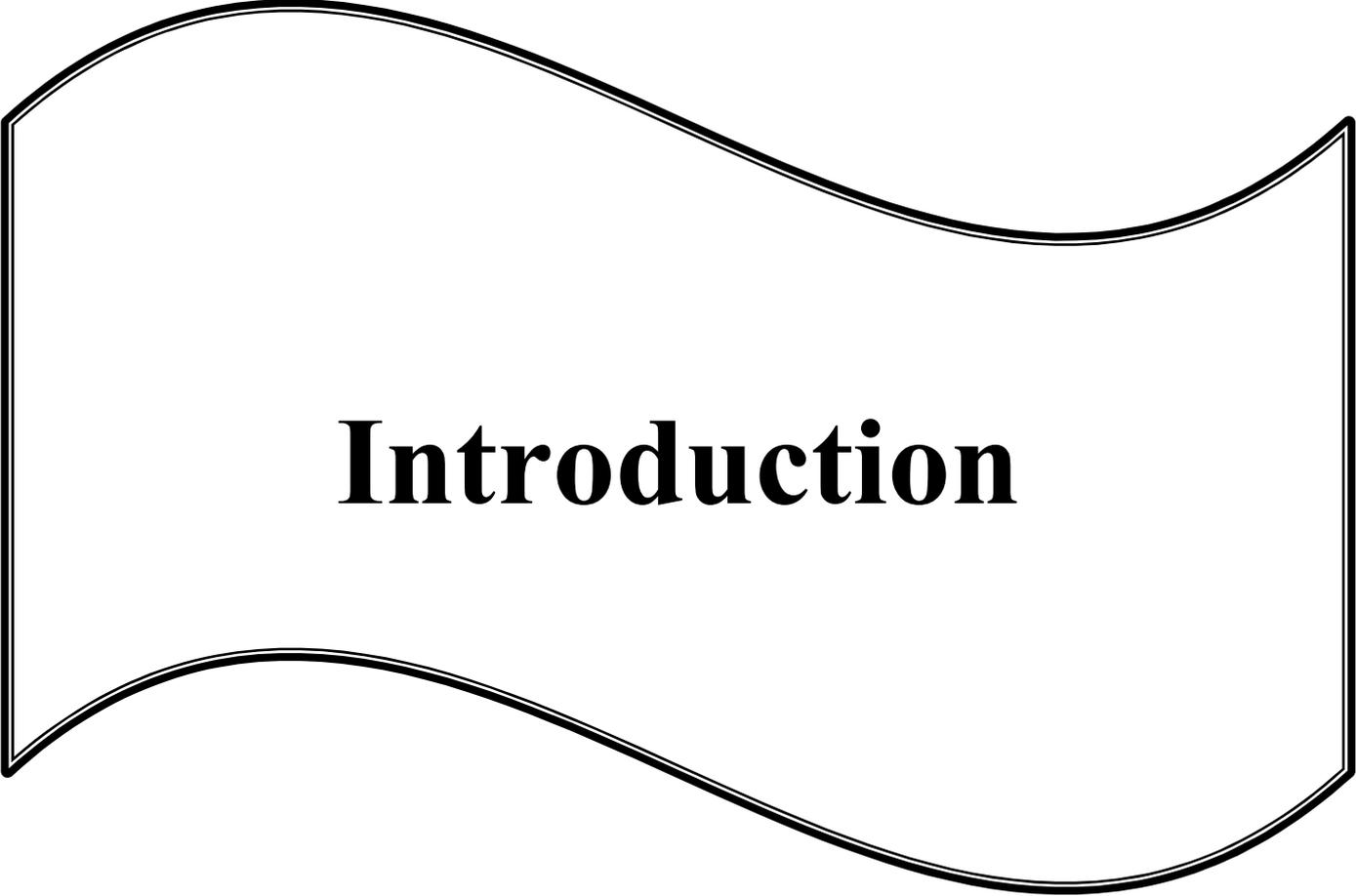
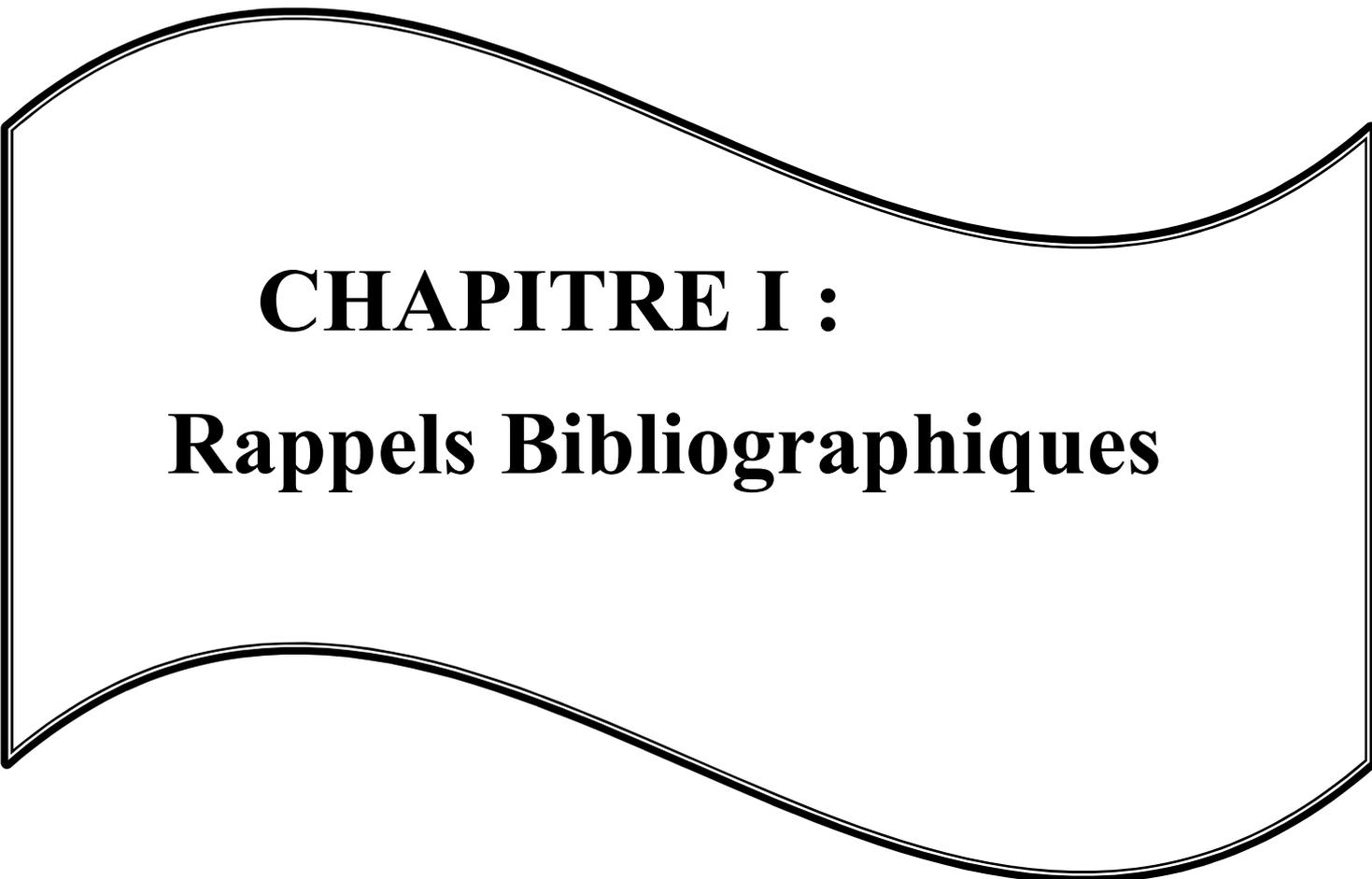


Figure 04 : Manifestations cliniques d’une infection par le VHB (Liaw et Chu, 2009).



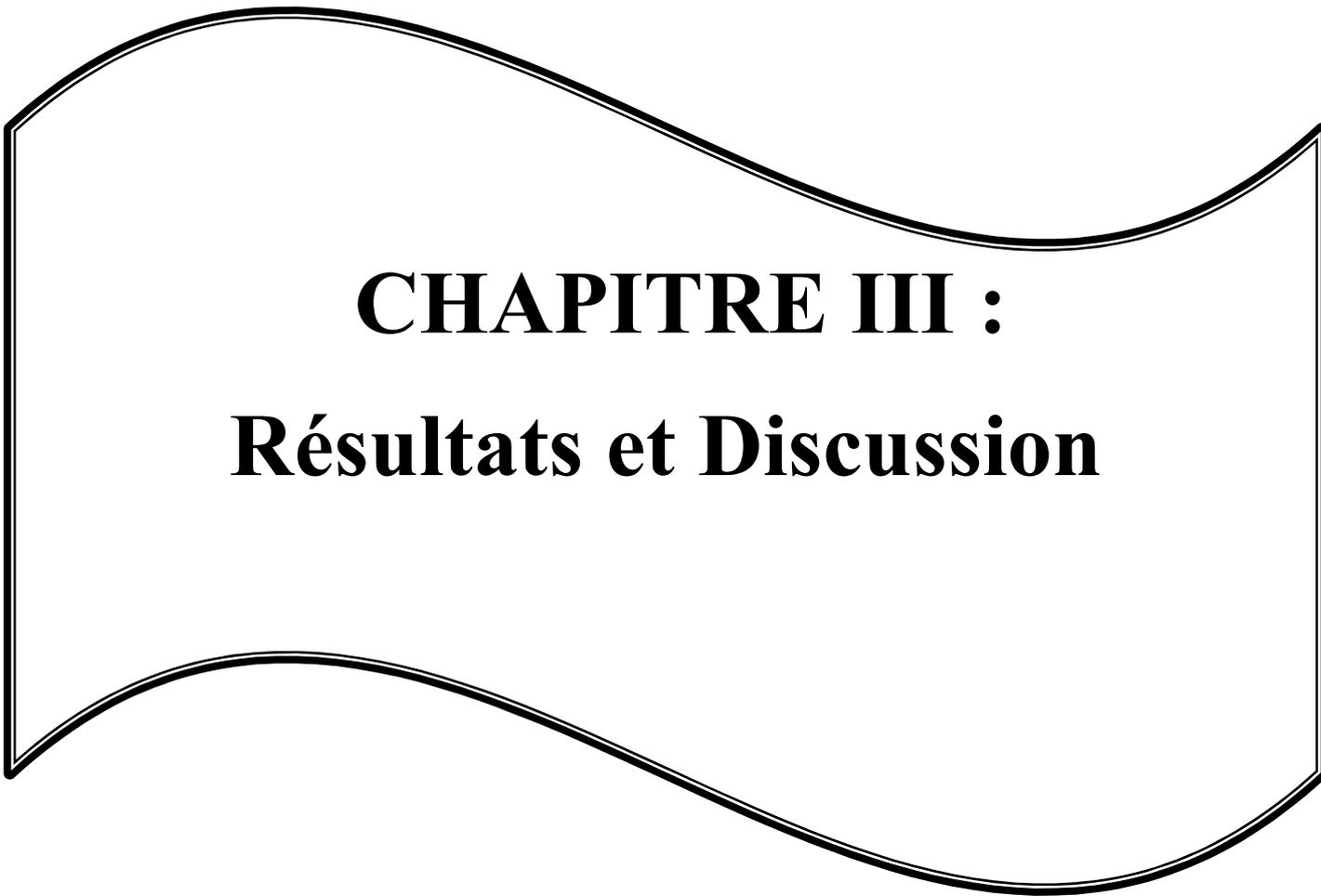
Introduction



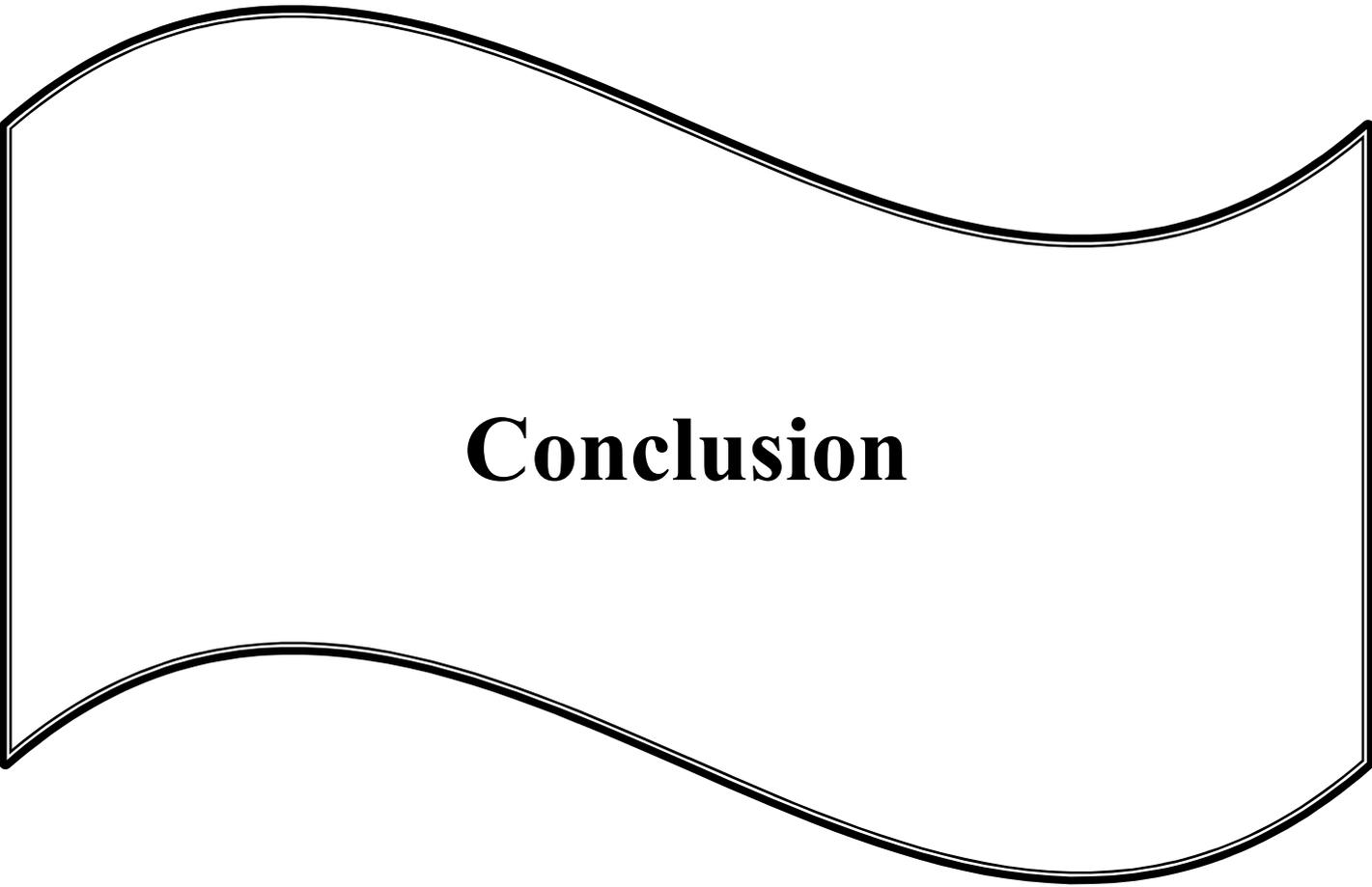
CHAPITRE I :
Rappels Bibliographiques



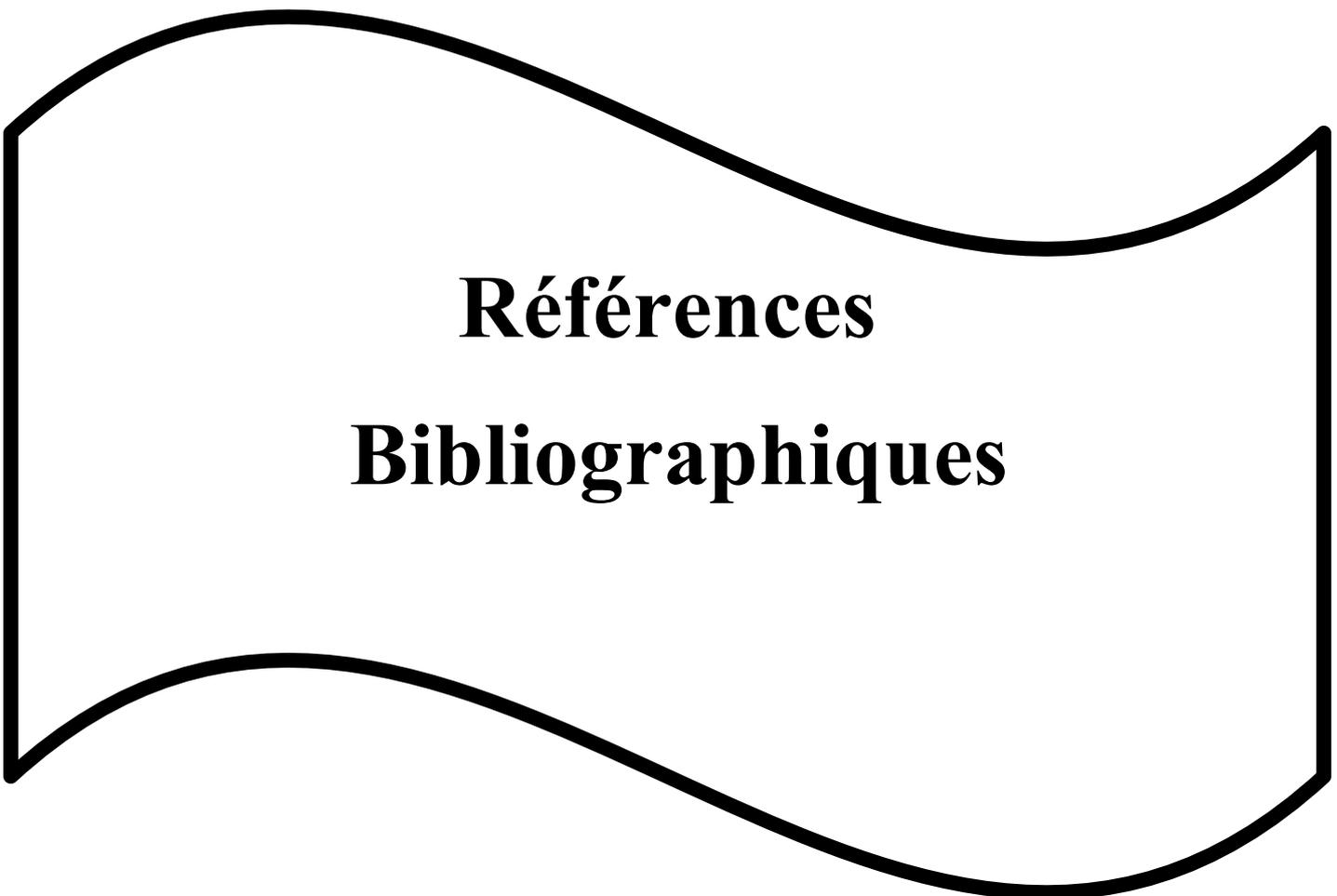
CHAPITRE II :
Matériel et Méthodes



CHAPITRE III :
Résultats et Discussion

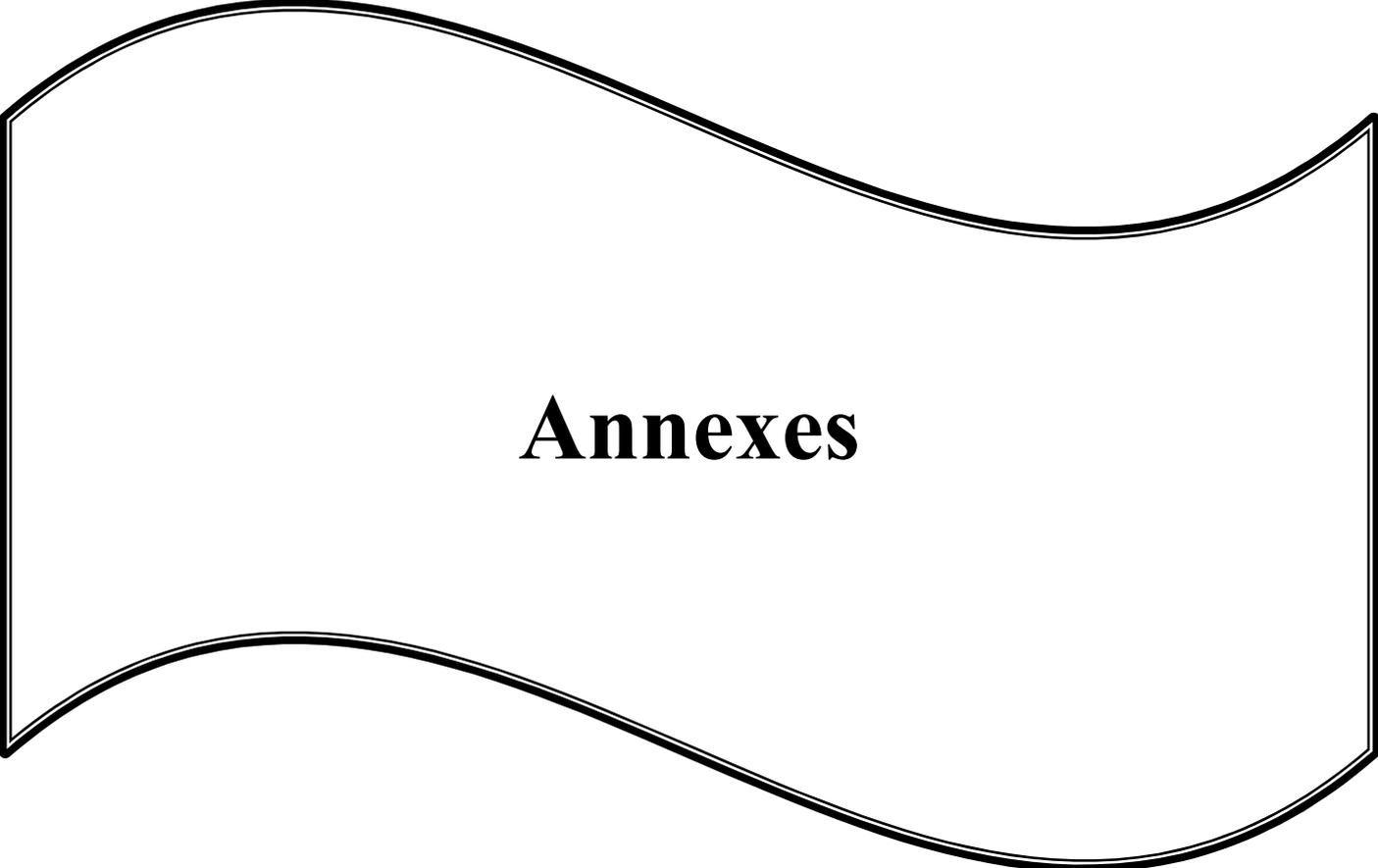


Conclusion



Références

Bibliographiques



Annexes

Notre travail a été réalisé au niveau du PTS et laboratoire de Meftah basée sur le dépistage de l'hépatite virale B et C chez 749 donneurs puis compléter par une étude du bilan hépatique, a conduit aux résultats suivant:

✿ D'après les résultats sérologiques

- ✓ le virus de l'hépatites virales B et C sont rarement trouvée chez les donneurs du sang (1,47%)
- ✓ Une prédominance de l'hépatite virales B (1,20%) que C% (0,27 %)
- ✓ Une prédominance du sexe masculin
- ✓ La majorité des donneurs infectée par le virus de l'hépatite virale sont des populations jeunes (la tranche d'âge est comprise entre 30 et 49ans).

✿ D'après les résultats biochimiques

On conclure que:

- ✓ Phosphatase alcalin et bilirubine (direct et totale) ne sont pas affectées chez les donneurs Hbs+.
- ✓ les transaminases (ALAT et ASAT) sont plus élevées chez les donneurs Hbs+ avec une élévation prononcée pour ALAT.

Références Bibliographiques

- ♣ **Antony S., Eugene B., Kurt J. I., Jean D.W., Joseph B.M., Dennis L.K., Stephen L.H. et Danl L., 2000**-Médecine interne, 14ème édition, Tome 2. Mc Graw-Hill International (UK) (Ed): London, 2964p.
- ♣ **Ainas L., 2009**-prévalence des infections VIH, VHB, VHC et Syphilis chez les donneurs de sang au CHU Tizi-ouzou thèse doctorat en médecin: 2011
- ♣ **Asselah T., Lada O. et Boyer N., 2008**-Traitement de l'hépatite chronique B. *Gastroenterol. Clin. Biol.*, **32(4)**: 749-768pp.
- ♣ **Ayed Z., 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 médecin: 2005.
- ♣ **Bascil L., Frexinos k., 2004**-Hépto-gastro-enterologie, Edition Elsevier Masson paris :713
- ♣ **Bedossa P. Mécanismes de la fibrose associée aux hépatites chroniques C. In : Pawlotsky J.M., Dhumeaux D., 2004**-Hépatite C. Edition E.D.K:Paris, 129-141.
- ♣ **Benhamou J.P., 1987**-Les maladies du foie et les voies biliaires, 4^{eme}Edition: flammarion: 5p.
- ♣ **Bernard F., Denise A., Denis F., Nicole G., Francine H., Jeane Marie V., Emmanuel J., Isabelle M., jean claude T., 2005**-risque de contamination horizontale au sein de collectivité d'enfants en cas de presence d'un porteuses du virus de HVB et opportunité de vacciner la population contact rapport de groupe de travaile du conseil superiaure d'hygiene publique de France (GSHPF), validé lors du CSHPF: thèse doctorat en médecin: 2007.
- ♣ **Broocks F.G., Butelf J., Mose A.S., 2001**-Virus de l'hépatite en microbiologie médicale, 3^{eme} édition Appleton newyork: 80p.
- ♣ **Buffet C., Pelletier G., 1994**-Hépatologie, 2^{eme} édition Masson, paris: 238p
- ♣ **Catrice M., 2009**-prevention de l'hepatite B dans les populations migrantes originaires de zones de forte endemie au France. thèse doctorat en médecin : 194-196
- ♣ **Charlotte L.D., 2009**-Analyse du mécanisme d'entrée du Virus de l'Hépatite B : identification d'un nouveau déterminant de l'infectivité: 164
- ♣ **Collier L., Oxford J., 2004**-Virologie humaine. Edition :Flamarion France: 284p.

- ♣ **Crainic R., Nicolas J.C., 1993**-Virology medicals. Edition médicale internationales: 527p.
- ♣ **Dembele A., 1999**-Consideration séro-épidémiologiques sur le virus de l'hépatite C au CNTS de Bamako. Thèse Pharm. Bamako: 2003.
- ♣ **Denis A., 2004**- Evolution des stratégies vaccinales et couverture vaccinale contre l'hépatite B en France, pays de faible endémie. *Path. Biol Med Mal Infect*; 34(4): 103-114.
- ♣ **Denis D., 1991**-Biochimie clinique, édition Maloine (Ed). Paris, 451-537pp.
- ♣ **Doré D., 1994**-biochimie clinique, édition Maloine S-a paris, 435-496 pp.
- ♣ **Dussol B., 2005**-insuffisance rénale chronique, revue de praticien, 16(1): 150-154pp.
- ♣ **Esteba J.I., Gonzales A., Hernandez J.M., Vilademin L. et Sanches L., 1990**- Evaluation of antibodies to HCV in a study of transfusion hepatitis associated Eng J Med, (323):1107-11.
- ♣ **Eyquem A., Desaint J. et Vignon D., 1983**-Immuno hépatothologie (hépatite, ictère,cirrhose), édition maloine S-a paris:179-229pp.
- ♣ **Fleury H.J.A., 1993**-Virologie humaine. 4^{ème} édition: Masson. Paris: 209p
- ♣ **Franchis R., Marcellin P., 2003**-EASL International Consensus Conference on Hepatitis B. *J. Hepatol*, 39 (1): 3-25.
- ♣ **Gayno S., Marcellin P., 1992**-Detection of serum HBV-DNA by polymerase chain reaction (PCR) in patients before reactivation of chronic hepatitis B. *Journale clinical*; 14(2-3): 357-360pp.
- ♣ **Genetet B., Andreu G. et Bidetj M., 1991**-Aide mémoire de transfusion édition flammation paris: 210p.
- ♣ **Genetet N., 2002**-Immunologie 4ème édition lavoisier: 842p.
- ♣ **Gerich J. E., 1993**-Contrôl of glycaemia. *clin endocrinol .metab*, 17(2): 551-586pp.
- ♣ **Gerolami A., 1990**-sécrétion biliaire, *Encycl.Médalir (Elsevier ; paris)*: 3-7pp
- ♣ **Goffard A., 2012**-Infections par le virus de l'hépatite B. *Hépatology* 27(2) : page 11-13pp
- ♣ **Goldstein S.T., Zhou F., Hadler S.C., Bell B.P., Mast E.E. et Margolis H.S., 2005**-A mathematical model to estimate global hepatitis B disease burden and vaccination impact. *Int J Epidemiol* 34(6): 1329-1339pp.
- ♣ **Gouban P., pellegrins G., 2000**-Repères en microbiologie.Gorant: 186-187
- ♣ **Grando V., Trinchet J.C., 2003**-Histoire naturelle de l'infection par le virus de

- l'hépatite C. *In* : Dény P., Roulot D. Virus de l'hépatite C. Elsevier SAS:77-88.
- ♣ **Gretch D.R., 1997**-Diagnostic tests for hepatitis C. *Hepatology*: 43-47.
 - ♣ **Guindo O., 2003**-Infection à VIH et à VHB chez les donneurs de sang au CNTS de Bamako. Thèse Pharm Bamako.
 - ♣ **Hadjiky P., Dadoune J., Siffroi J. et Vendrely E., 2000**-Histologie. 2ème édition. Flammarion (Ed). Paris, 330 p.
 - ♣ **Hennen G., 1996**-Biochimie humaine. Deboeck et Larquier s-a Paris Bruxelles: 12p
 - ♣ **Huraux J.M., Jean Claude N., Agut H. et Héléne P., 2003**-Traité de virologie médicale, édition Estem, Paris: 699p
 - ♣ **Huraux J., Nicolas J. et Agut H., 2003**-virologie flammarion médecine sciences printed in France: 248-253pp.
 - ♣ **Kew M.C., Houghton M., Choo Q.L. et Kwo G., 1990**-Hepatitis C antibodies in southern African blacks with hepatocellular carcinoma. *Lancet*, **(335)**: 873-74pp.
 - ♣ **Kiyosawa K., Tanaka E., Sodeyama T., Yoshizawa K., Yabu K., Futura K., Lamai H., Nakano Y., Usuda S. et Uemura K., 1994**-Transmission of hepatitis C in an isolated area in Japan: community-acquired infection. The South Kiso Hepatitis Study Group. *Gastroenterology*, **(106)**: 1596-1602.
 - ♣ **Kramvis A., Kew M.C., 2007**-Epidemiology of hepatitis B virus in Africa, its genotypes and clinical associations of genotypes. *Hepatology Res*; **37(4)**: S9-S19.
 - ♣ **Lavanchy D., 2004**-Hepatitis B virus epidemiology, disease burden, treatment, and current and emerging prevention and control measures. *J Viral Hepat* **11(2)**: 97-107
 - ♣ **Lefrère J., 1998**-guide pratique des hépatites virales Elsevier Masson 82-107p
 - ♣ **Lejeune O.** *In* : Trepo C, Merle P, Zoulim F. Hépatites virales B et C. Editions John Libbey Eurotext. Paris, 2006: 149-161.
 - ♣ **Levy P., Marcellin P., 1990**-Clinical course of spontaneous reactivation of hepatitis B virus infection in patients with chronic hepatitis B. *Hepatology* 1990 ; 12(3 Pt 1): 570-4.
 - ♣ **Levy J.P., 2001**-Hématologie et transfusion. Edition Masson Paris: 150p.
 - ♣ **Liaw Y.F., Chu C.M., 2009**-Hepatitis B virus infection. *Revue : Med trop* **27(6)**: 582-592pp
 - ♣ **Lok A.S., 2002**-Chronic hepatitis B. *Engl J Med* **36(4)**: 1682-1683
 - ♣ **Malraux A., 2008**-Le Risque Transfusionnel, magazine oxymage **23(6)**:173p
 - ♣ **Mammette A., 2002**-virologie médicale. Edition: presses universitaires de Lyon : 798 p.

- ♣ **Marcellin P., 2004**-Traitement des hépatites chronique virales. Revue générale :Elsevier **26(4)**: 465-468
- ♣ **Marcellin P., Asselah T. et Boyer N.,2008**-Histoire Naturelle De L'hépatite C. In: **Lejeune O., 2006**-La Maladie. In : **Trepo C, Merle P, Zoulim F.**, Hépatites virales B et C. Editions John LibbeyEurotext. Paris: 149-161.
- ♣ **Maurin J., 1984**-Virologie médicale. Edition :flammarion médecine science, paris: 864p
- ♣ **Moreau R., 2010**-Maladie de foie .Journal clinical, Paris **32(4)**: 75-76
- ♣ **Naveau S., Bilian A., 2003**-hépatogastroentérologie. Edition: masson .paris : 98p
- ♣ **Nilsen M., 1971**-The role of hepatitis C virus-specific cytotoxic T lymphocytes in chronic hepatitis C. J Immunol **285(7)**:1157-1159p
- ♣ **OMG., 2008**-Organisation mondiale de gastroentérologie [en ligne]. Recommandation pratique sur l'hépatite B.
- ♣ **Paul D., Dominique R., 2003**-virus d'hépatite C, médie bio, France: 24p
- ♣ **Pawlotsky J.K., Lunel F., 2004**-Le virus de l'hépatite C .In: les virus transmissibles par le sang : 23-52pp.
- ♣ **Penin F., 2003**-Structural biology of hepatitis C virus. Clin Liver Dis, **7(2)**: 1-21pp.
- ♣ **Roingard P., Hourieux C. et Blanchard E., 2004**-Hepatitis C virus ultrastructure and morphogenesis. BiolCell, **96(5)** : 103-8pp.
- ♣ **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. Bamako: 2003
- ♣ **Schaffler A., Schidi S., 1999**-Anatomie Physiologie Biologie. Maloine (Ed). Paris, 338p.
- ♣ **Schaechter M., Meddoff H., Eisenstein P., 1999**-Microbiologie et pathologie Infectieuse 2^{ème} Edition Flammarion médecine science américaine. 530p
- ♣ **Segondy M., 2005**-Diagnostic Et Suivi Biologique Des Hépatites Virales. Rubrique Gastroentérologie-Hépatologie ou Infectiologie ;**32(4)** :15-17pp
- ♣ **Seigneurin J.M., Morand P., 1997**-Virologie moleculaire médicale. Edition medicale internationale. France: 486p
- ♣ **Siegenthaler P., Bosman B., 2008**-Les transfusions des produits sanguins labiles,4ème eddition :Elservier Masson. Paris: 149p
- ♣ **Snou T., Ikuta Y. et Hasegawa M., 1992**-Prevalence of hepatitis C virus antibodies in Yatsukatown of Simane prefecture, Nippon Shokakihyo Gakkai Zasshi .Japan: 89(6):1173-8pp.
- ♣ **Sophie H., 2002**-Hépatit B egrasses, Mini revues: Hèpato –gastro , **9(2)**: 89- 91pp.

- ♣ **Tangara O., 2004**-Coinfection hépatite B hépatite C Chez les donneurs de sang au CNTS de bamako. Thèse pharm. 57-61.
- ♣ **Tazerout M., Galinier Y., 2003**-Les Clés de l'Hemovigilance. Journale clinique de France **46(3)**: 40-44pp
- ♣ **Thibault V., 2001**-infection nosocomiales dues au virus de l'hépatite B, Annale de biologie clinique,. Paris, Jhon hibbye Euro Text **59(2)**: 12 -18 P
- ♣ **Thomson A.B.R., Shaffer E.A., 2005**-Principes fondamentaux de gastro-entérologie États Pathologiques et démarches thérapeutiques. 3^{ème} Eddition flammarion:972 p.
- ♣ **Thomas D.L., 2000**-Hepatitis C epidemiology. (**242**): 25-41.
- ♣ **Tortora G.J., Reynolds Grabowski S., 2002**-Principe d'anatomie et physiologie. 3^{ème} édition : Flammarion médecines science paris: 1121p.
- ♣ **Traore H., 2005**-Etude des paramètres biologiques chez les donneurs de sang infectés par le virus de l'hépatite C au CNTS de Bamako. Thèse Pharm. Bamako: 2003
- ♣ **Vacheret N., 1999**-Ultrastructure du parenchyme hépatique, 2^{ème}édition :masson. Paris: 336p.
- ♣ **Villeneuve J.P., 2012**-Chronique de l'hépatite B et David Barbeau Le Médecin du Québec, **47(4)**:1045-1049pp.
- ♣ **Vochelle V., Trepo C. et Merle P., 2007**-Traitement des hépatites virales chroniques. Revue française de transfusion et immuno-hématologie France **16(7)**: 618–625pp
- ♣ **World Health Organization., 2002**-Hepatitis B, Department of Communicable Diseases Surveillance and Response,. To find this document: WHO > Programmes and projects > Epidemic and Pandemic Alert and Response (EPR) in Burundi.Wkly epidemiol Rec, 1997; **21(2)**: 152-3pp.

- ♣ **Zarski J.P. et Marcellin P., 1994**-Comparison of anti-HBe-positive and HBe-antigen-positive chronic hepatitis B in France. French Multicentre Group. Hepatol clin boil. **20(5)**: 636-640pp.
- ♣ **Zarski J.P., Thelu M.A., Rachail M. et Seigneurin J.M., 1991**-Biologie moléculaire de viruse de l'hépatite B. Gastroenterol clin biol. **15(2)**: 497-508pp
- ♣ **Zoulim F., Kay A., Merle P. et Trèpo C., 2006**-Virologie de l'hépatite B, journale clinique **27(1)** :17-19pp.

Summary

The study perspective and retrospective making is composed of 749 donors for blood the transfusion in MEFTAH hospital allows us to discover the presence of antigen and antibody HCV in case of hepatitis viral B and C for the donors of blood with sensible and precise (immunoenzymatic Linked Immuno Sorbent Assay). According to the serological results obtained, we found that there is 9 cases HBV positive in males and 2 cases HVC positive in males too. So, we note that men are more affected (1, 34) than women (0, 14), especially young people between 18 and 49. we have required complete our analyzes serological by the analyzes biochemical about 5 case healthy Ag HBs selected Random by based about 3 hepatic parameters are: the PAL, the transaminas, the bilirubin direct and total, the result of this analyzes is (98-279U/L) in PAL, the bilirubin direct (31,13%) and total (11,11%) despite that this sick reached hepatitis B with increase significant of rates transaminas (51,22%).

Keywords:

Blood donors, Hepatitis B virus , Hepatitis C virus , ELISA , bilirubin.

ETABLISSEMENT PUBLIQUE HOSPITALIER
DE MEFTAH
SERVICE DE TRANSFUSION SANGUINE

FICHE D'EXAMANE MEDICALE

Date: Codification:

Nom: Prénom:

Sexe: Masculin Féminin Date et lieu de naissance:

Etat civil: Célibataire veuf (Ve) Marié(e)

Nombre d'enfant :

Profession :

Adresse personnelle :

Adresse professionnelle :

N° de téléphone : N° de Fax :

HISTOIRE DE DON

Type du donneur : Régulier Occasionnel contre partie

Date de premier don : Lieu du prélèvement :

Incidents post don : Oui Non Préciser :

EXAMEN MEDICAL

Etat générale :

-Poids : -Taille :

-Tension artérielle : -Pouls :

-coloration des muqueuses : -Notion d'amaigrissement :

-Taux d'hémoglobine :

-Prise d'un léger repas : oui Non

-Grossesse : oui Non

-Allaitement : oui Non

-Menstruation : oui Non

I-Matériels non biologiques

Appareillage

Centrifugeuse des tubes

Centrifugeuse des poches

Réfrigérateur

Tensiomètre

Balance

Agitateur des poches

Clampeuse

Chaine Elisa

- Incubateur ou étuve à 37 °c
- Laveur automatique des microplaques
- Lecteur des densités optiques (spectrophotomètre)
- Imprimante

Matériel utilisé

Un garrot

Gants de laboratoire en latex à usage unique

Les poches du sang

Les tubes héparines.

Les micropipettes réglables

Les micropipettes fixes de volume: 10 μ l, 50 μ l, 100 μ l.

Portoirs en plastiques.

Les embouts jaunes (0 μ l-100 μ l)

Les embouts bleus (10 μ l-1000 μ l)

Coton

Compresse

Alcool

Eau de javel

Eau distillé



Les micropipettes



Les embouts



portoir avec des tubes.



Centrifugeuse des tubes



La chaine ELISA



Coffret BIOLOGIX HBs Ag EIA KIT.



Coffret BIOLOGIX HCV antibody EIA Test Kit.



préparations finales des réactifs de bilan hépatique.

Tableau II: Composition de coffret BIOLOGIX HBs Ag EIA KIT

Réactifs	Nature des réactifs	Présentation
	Microplaque : 12 barrettes de 8 cupules sensibilisées avec AC anti Hbs.	1
	Conjugué (1) (péroxydase)	1x8 ml
	Solution de lavage (2) : tampon de lavage concentré	1x40 ml
	Substrat A (3) (hydrogène peroxyde)	1x8 ml
	Substrat B (4) (tétraméthylbenzidine)	1x8 ml
	Solution d'arrêt (5) (acide sulfurique)	1x8 ml
	Contrôle négatif (6)	1x1 ml
	Contrôle positif (7)	1x1 ml
	Films adhésifs	2

Tableau III : Composition de coffret BIOLOGIX HCV antibody EIA Test Kit

Réactifs	Nature des réactifs	présentation
	Microplaque : 12 barrettes de 8 cupules sensibilisées couvertes d'AC monoclonaux anti-VHC de la capside, d'Ag recombinants purifiés et de peptides mutants spécifique au VHC.	1
	Conjugué (1) : Constitué d'AC de souris marqués à la peroxydase dirigés contre les IgG humain et d'une protéine marquée à la peroxydase.	1x12ml
	Solution de lavage (2): tampon de lavage concentré	1x 50 ml
	Diluent (2A) : Spécimen diluant	1x12 ml
	Substrat A(3) (hydrogène peroxyde)	1x8 ml
	Substrat B (4) (tétraméthylbenzidine)	1x8 ml
	Solution d'arrêt (5) (acide sulfurique)	1x8 ml
	Contrôle négatif (6)	1x0, 4 ml
	Contrôle positif (7)	1x0, 4 ml
	Films adhésifs	3

Tableau IV : Répartition des donneurs en fonction de sexe.

Sexe	Homme	femme	Totale
nb^{re} des donneurs	661	88	749
Pourcentage (%)	88.25	11.75	100

Tableau V : Répartition des donneurs selon les tranches d'âge.

Tranche d'âge	[18 -28[[28-38[[38- 48[[48 -58[≥ 58
Effectif des donneurs	192	274	184	88	11
pourcentage (%)	25,64	36,58	24,57	11,75	1,46

Tableau VI: Répartition des donneurs en fonction de résultat sérologique pour Ag Hbs.

sérologie de l'Ag Hbs	effectif	pourcentage (%)
Sérologie positif	09	1.20
Sérologie négatif	740	98.0
totale	749	100

Tableau VII : Répartition des donneurs en fonction de résultat sérologique pour l'hépatite virale C.

sérologie de l'AC HCV	effectif	Pourcentage
Sérologie positif	02	0.27
Sérologie négatif	747	99.73
totale	749	100

Tableau VIII : Répartition des donneurs d'Hbs positif selon le sexe.

	homme	Femme
effectif des donneurs	661	88
Hbs positif	8	1
pourcentage	1.21	1.14

IX: Répartition des donneurs d'Ac HCV positif selon le sexe.

	homme	Femme
effectif des donneurs	661	88
Hbs positif	02	00
pourcentage	0.30	00

Tableau X: Répartition des donneurs d'Hbs positif selon les tranches d'âge.

Tranche d'âge	[18 -28[[28-38[[38- 48[[48 -58[≥ 58
Totale	192	274	184	88	11
séropositivité	02	05	01	01	00

Tableau XI: Répartition des donneurs d'AC HCV positif selon les tranches d'âge.

Tranche d'âge	[18 -28[[28-38[[38- 48[[48 -58[≥ 58
Totale	192	274	184	88	11
séropositivité	00	00	02	00	00

Tableau XII: taux des transaminases chez les donneurs de sang.

AgHbs ⁻ TGP	AgHbs ⁺ TGP	AgHbs ⁻ TGO	AgHbs ⁺ TGO
30	65	25	61
30	30	37	36
20	68	22	60
40	55	39	51
49	60	41	40
33,8 ±4,94	55,6 ±6,78	32,8 ±3,88	49,6 ±5,08

Tableau XIII: taux de phosphatase alcaline chez les donneurs de sang.

AgHbs ⁻	AgHbs ⁺
173	167
255	107
185	210
141	227
127	105
176,2±22,32	163,2±25,32

Tableau XIV: taux de la bilirubine chez les donneurs de sang.

AgHbs ⁻ BT	AgHbs ⁺ BT	AgHbs ⁻ BD	AgHbs ⁺ BD
7	6	2	1
9	7	2	2
5	8	1	2
5	5	2	1
6	7	2	2
6,4 ± 0,75	6,6 ± 0,51	1,8 ± 0,2	1,6 ± 0,25

Tableau XV: bilan hépatique chez les donneurs de sang Différences en pourcentages et signification statistique des différences

	M1	M2	DIFFERENCE EN %	p
TGP				
AgHbs / SAINS	33,8	55,6	64,50	0,031
TGO				
AgHbs / SAINS	32,8	49,6	51,22	0,030
PAL				
AgHbs / SAINS	176,2	163,2	-7,38	0,710
BIL BT				
SAINS vs. AgHbs	6,4	6,6	3,13	0,830
BIL BD				
SAINS vs. AgHbs	1,8	1,6	-11,11	0,545

Glossaire

- ♣ **Cirrhose:** Maladie chronique du foie provoquée par une altération de ses cellules (**Pierre, 2002**).
- ♣ **Cytolyse:** ce syndrome correspond à une lyse cellulaire. Par conséquent, le contenu des cellules hépatique se déverse dans le sang (**Durand *et al.*, 1999**).
- ♣ **Fibrose:** transformation de certains tissus en un tissu composé de fibre (**Traore, 2005**).
- ♣ **Hémoglobine:** Protéine pigmentée contenue dans les globules rouges, composée de globuline et de fer (**Encarta, 2009**).
- ♣ **Ictère:** coloration jaune de la peau et des muqueuses à causes de l'excès de bilirubine Dans le sang (**pierre, 2002**).
- ♣ **Stéatose:** c'est-à-dire l'accumulation anormale des graisses dans les cellules hépatiques (**Moreau, 2010**).