

REPUBLICQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE.
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE SAAD DAHLAB - BLIDA 1 -



MAHFOUD M
Maitre Assistant en
MICROBIOLOGIE
Laboratoire Central C.H.U Blida

FACULTE DE MEDECINE
DEPARTEMENT DE PHARMACIE

La Prévalence de l'hépatite C à l'EHS de
Psychiatrie – Blida entre 2012 et 2016

Thèse d'exercices

Présentée en vue de l'obtention du diplôme

de docteur en pharmacie

Session : Juillet 2017

Présentée par :

- KOUACHE Oussama
- MEZHOUDI Hadj Elnadir
- ZAOUI Ben Hamed
- Devant le jury :
- Président de jury : Dr MAHFOUD. M Maitre-assistant en microbiologie Unité frantz Fanon
CHU Blida
- Examineur 1 : Dr FOUATHIA . A Maitre-assistant en microbiologie CHU Bouchaoui
- Examineur 2 : Dr OUNAS .S Praticien spécialiste Chef assisstant en biologie clinique
CHU Blida
- Promotrice : Dr OUKID. S Maitre assistante en microbiologie Unité Hassiba Ben Bouali
CHU Blida

=

REMERCIEMENTS

On dit souvent que plus le combat est grand plus la victoire est immense.

Les six années d'étude nous ont permis de bien comprendre la signification de cette citation.

A priori, On remercie dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce travail.

On est redevable au Professeur R. Belouni et au docteur Mahfoud. Nous les remercions pour leurs qualités pédagogiques et scientifiques, leur dévouement pour l'amélioration de la qualité du travail au niveau du département.

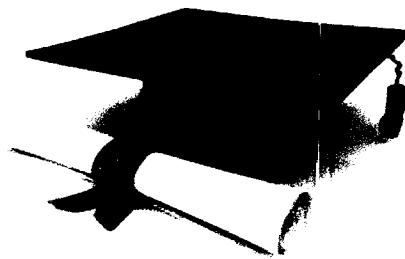
Veillez accepter nos sentiments de plus grand respect et de notre profonde reconnaissance.

Ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu voir le jour sans l'aide et l'encadrement du Dr.S.BELKACIMI et DR S.Okid nous les remercions pour la qualité exceptionnelle de son encadrement, pour son patience, son rigueur et son disponibilité durant la préparation de notre thèse , malgré les difficulté .

MRS les Membres de jury, nous tenons également à témoigner notre reconnaissance pour avoir si volontiers accepté de siéger en ce jury.

Vous nous avez honorés en acceptant de juger notre travail

Nos sincères remerciements vont à tous ceux et celles, qui de près ou de loin, ont permis par leurs conseils et leurs compétences la réalisation de cette thèse.



Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

Tout d'abord, Allah pour m'avoir donné la force dans les moments difficiles

Mes très chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse et leur prière tout au long de ma vie.

Mes chers sœurs et frères pour leur encouragement permanent et leur soutien moral

Ma promotrice Mm docteur Belkacemi Souhila qui m'a donné le plus grand soutien pour accomplir ce mémoire

Toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire.

Tous mes amis pour leur appui surtout mes deux collègues Mazhoudi Hadj Nadir et Koueche Oussama .

Que toute personne m'ayant aidé de près ou de loin, trouve ici l'expression de ma profonde gratitude et reconnaissance.

ZAQUI BEN HAMED

Dédicace

Aujourd'hui, ici rassemblés auprès des jurys, Nous prions dieu que cette soutenance
Fera signe de persévérance Et que nous serions enchantés Par notre travail honoré

Je dédie cette thèse à ...?

A ma très chère mère, Affable, honorable, aimable : Tu représentes pour moi le
symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement
qui
n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Ta prière et ta bénédiction m'ont été
d'un grand secours pour mener à bien mes études. Aucune dédicace ne saurait être
assez
éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de
me
donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte.
Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans
leur vie et leurs études.
Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout
puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

A mon très cher Père

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect
que
j'ai toujours eu pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon
éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis
pour mon éducation et ma formation.

A mon très cher frère Youcef

Mon cher frère présent dans tous mes moments d'examens ?, son soutien moral et ses
belles surprises sucrées. Je te souhaite un avenir plein de joie, de bonheur,
de réussite et de sérénité.

A ma très chère sœur, et ma fiancée

En témoignage de l'attachement, de l'amour et de l'affection que je porte pour vous.
, vous êtes toujours dans mon cœur. Je vous remercie pour votre hospitalité sans égal
et votre affection si sincère. Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de
bonheur, de santé et de réussite

oussama kouache

Table des matières

Introduction.....	1
Chapitre I : Virus de l'Hépatite C.....	6
I.1 Taxonomie du virus de l'hépatite c.....	6
I.2 Structure du virus C :	6
I.2.A Morphologie :	6
I.2.B ORGANISATION GENOMIQUE :	6
I.2.C Intérêt du génotype du VHC :	9
I.3 -Cycle de multiplication.....	10
I.3.A -Fixation.....	10
I.3.B -Traduction.....	10
I.3.C -Réplication.....	11
I.3.D -Assemblage et excrétion des virions.....	11
I.4 - Variabilité génétique :	12
Chapitre II : Epidémiologie du virus C.....	13
II.1 -Modes de transmission:.....	13
II.1.A - Transmission par transfusion de sang et ses dérivés.....	13
II.1.B -Toxicomanie.....	13
II.1.C -Transmission materno-foetale"verticale".....	14
II.1.D - Transmission sexuelle.....	14
II.1.E - Transmission nosocomiale.....	14
II.1.F -Transmission professionnelle.....	15
II.1.G - Autres modes de transmission.....	15
II.2 - Recommandations de dépistage.....	15
II.3 -Génotypes et épidémiologie.....	16
II.4 -Les coïnfections par le HCV et le VIH.....	17
Chapitre III : Physiopathologie de l'HCV	18
III.1 PHYSIOPATHOLOGIE.....	18
III.1.A L'hépatite C aigue:.....	19
III.1.B -l'hépatite fulminante:.....	20
III.1.C -L'hépatite C chronique:	20
III.2 -Cinétique des marqueurs de l'hépatite C :.....	22

III.2.A	Cas particuliers:	23
III.3	-Diagnostic virologique d'une hépatite C	25
III.3.A	-Objectifs	25
III.3.B	-Diagnostic de l'infection, en deux étapes:	26
Chapitre IV : Diagnostic et traitement.....		29
IV.1	Démarche diagnostic:.....	29
IV.2	Prise en charge thérapeutique des infections par le HCV:.....	29
IV.2.A	-Armes thérapeutiques.....	30
IV.2.B	-Surveillance de l'efficacité du traitement:	30
IV.2.C	-Surveillance de la tolérance au traitement:.....	30
IV.3	La prévention de l'hépatite C:	32
IV.4	perspective :	32
Chapitre V : matériel et méthode :.....		35
V.1	- période , lieu et type de l'étude :	35
V.2	- critères d'inclusions :	35
V.3	problèmes et difficultés de recherche :	35
V.4	- présentation des outils de recherche :	35
V.5	-Matériel utilisés.....	36
V.5.A	-Appareillages et instruments:	36
V.5.B	-Produits et consommables:.....	36
V.5.C	-Composition de la trousse Monolisa™:(voir annexe 4).	36
V.6	- Le prélèvement	36
V.7	-Principes des dosages immun enzymatiques.....	37
V.7.A	-Dosage d'Ac par ELISA direct:.....	37
V.7.B	-Dosage d'Ac par ELISA indirect:.....	38
V.7.C	-Technique sandwich.....	39
V.7.D	-Technique de compétition:	40
V.8	-Methodologie :	41
V.8.A	-Principe du test:	41
V.8.B	-Conditions de conservation des échantillons de sérum ou de Plasma :	42
V.8.C	-Reconstitution de la réactifs validité-conservation :.....	42
V.8.D	- mode opératoire :	43
V.8.E	-Calcul et interprétation des résultats.....	44
V.8.F	Interprétation des résultats	46

Chapitre VI : - la prévalence de l hépatite C 47

VI.1	RESULTATS (Représentation graphique des statistiques):	47
VI.1.A	la prévalence de l hépatite C :(du 1er janvier 2013 au 31 décembre 2014)	47
VI.1.B	la prévalence de l hépatite C :(du 1er janvier 2015 au 31 décembre 2015)	50
VI.1.C	la prévalence de l hépatite C :(Du 01 janvier 2016 au 30 juin 2016):	53
VI.2	interprétation et analyse des résultats :	56
Conclusion :		57

Liste des figures

▪ Figure 1: Structure de la particule virale de l' HCV	6
▪ Figure 2: Représentation schématique du génome du VHC	7
▪ Figure 3: Cycle de réplication du HCV	12
▪ Figure 4: Carte de répartition géographique des types et des sous-types du HCV	16
▪ Figure 5: L'histoire naturelle de l'HCV.....	18
▪ Figure 6:EVOLUTION D'UNE INFECTION PAR LE HCV.....	21
▪ Figure 7: Cinétique des marqueurs au cours d'une hépatite C aigue.....	22
▪ Figure 8: Cinétique des marqueurs au cours d'une hépatite C chronique.....	22
▪ Figure 9:Démarche diagnostic et thérapeutique	31
▪ Figure 10:Schéma représentant la technique ELISA direct.....	37
▪ Figure 11: Schéma représentant la technique ELISA indirect	38
▪ Figure 12:Schéma représentant la technique ELISA sandwich.....	39
▪ Figure 13: Schéma représentant la technique ELISA compétition.....	40
▪ Figure 14:pourcentage de cas HCV séropositifs par rapport au nombre total des tests effectués durant la période janvier 2013-décembre 2014	47
▪ Figure 15:Représentation des résultats du sexe séropositif.....	48
▪ Figure 16:Représentation des résultats par service.....	49
▪ Figure 17:pourcentage de cas HCV séropositifs par rapport au nombre total des tests effectués durant la période janvier 2015-décembre 2015	50
▪ Figure 18:Représentation des résultats du sexe séropositif.....	51
▪ Figure 19:Représentation des résultats par service.....	52
▪ Figure 20:pourcentage de cas HCV séropositifs par rapport au nombre total des tests effectués durant la période 01 janvier 2016 au 30 juin 2016	53
▪ Figure 21:Représentation des résultats du sexe séropositif.....	54
▪ Figure 22:Représentation des résultats par service.....	55
▪ Figure 23:La gravité de l'hépatite chronique appréciée d'après la biopsie de foie	66
▪ Figure 24:FOIE SAIN.....	66
▪ Figure 25:Composition de la toussé Monolisa TM.....	76
▪ Figure 26: Centrifugeuse	78
▪ Figure 27:agitateur type vortex.....	78
▪ Figure 28:Incubateur pour plaque ELISA.....	79
▪ Figure 29:Système de lavage automatique	79
▪ Figure 30:Appareil pour lecture pour microplaque	80

- Figure 31: Ordinateur contient un logiciel de lecture des plaques ELISA et une imprimante pour l'impression des résultats 80
- Figure 32: portoir à tubes 81
- Figure 33: L'incubation de la plaque ELISA 81
- Figure 34: Le lavage de la plaque ELISA 82
- Figure 35: La plaque ELISA pendant et après l'ajout du conjugué 82
- Figure 36: La plaque ELISA après l'ajout du substrat 83
- Figure 37: la plaque ELISA après l'ajout du diluant 83
- Figure 38: logiciel de la plaque ELISA 84

liste des tableaux:

- Tableau 1: Représentant les tests utilisés pour le diagnostic de l'hépatite C..... 23
- Tableau 2: Mode opératoire du test ELISA 43
- Tableau 3: Représentation des cas séropositifs en HCV durant les années 2013-2014 47
- Tableau 4: Répartition des cas séropositifs en HCV selon le sexe 48
- Tableau 5: Représentation des cas séropositifs en HCV Selon les échantillons provenant des services..... 49
- Tableau 6: Représentation des cas séropositifs en HCV durant les années 2013-2014 50
- Tableau 7: Répartition des cas séropositifs en HCV selon le sexe 51
- Tableau 8: Représentation des cas séropositifs en HCV Selon les échantillons provenant des services..... 52
- Tableau 9: Représentation des cas séropositifs en HCV durant la période janvier 2016 au juin 2016..... 53
- Tableau 10: Répartition des cas séropositifs en HCV selon le sexe 54
- Tableau 11: Représentation des cas séropositifs en HCV Selon les échantillons provenant des services..... 55

Listes des abréviations

- **Ac** : Anticorps
- **Ac anti-HCV** : Anticorps anti virus de l Hépatite C
- **ADN** : Acide désoxyribonucléique
- **Ag** : Antigène
- **ALAT** : Alanine aminotransférase
- **ANASE**: Agence Nationale d 'Accréditation et d'Evaluation en Santé française
- **ARN**: Acide ribonucléique
- **°C**: degrés Celsius
- **CHC** : Carcinome Hépato-Cellulaire
- **CHE** :Centre Hospitalier Universitaire
- **DO**: Densité Optique
- **EDTA** : Ethylène Diamine Tétra Acétate
- **EHS** : Etablissement Hospitalier spécialisé
- **ELISA** : Enzyme Linked Immunosorbent Assay
- **EPH** : Etablissement Public Hospitalier
- **EPSP** : Etablissement Public de Santé de proximité
- **HCV** : Hépatite C Virus
- **ID** : immuno-déprimé
- **IgG** : Immunoglobuline G
- **IV** : Intra -veineuse
- **INF** : Interféron
- **IPA** : Institut Pasteur d'Alger
- **mg/j** : milligramme par jour
- **ml** : millilitre
- **MTN** : Moyen des Témoins Négatifs
- **MTP** : Moyen des Témoins Positifs
- **NB** : Noter Bien
- **N^{le}** : Normale
- **nm** : nanomètre
- **OMS** : Organisation Mondiale de la Santé
- **PBH** : Ponction Biopsie Hépatique
- **PCR** : Polymérase Chain Réaction . Réaction en chaîne de la polymérase permettant d'amplifier une séquence dont la séquence des extrémités est connue .

- **Pvt** : prélèvement
- **RT-PCR** : PCR en Temps Réel
- **RVS** : Réponse Virologique Réel
- **TN** : Témoins Négatif
- **TP** : Témoins Positifs
- **TRT** : Traitement
- **UD** : Usagers de Drogues
- **UI** : Unité Internationale
- **UI/ml** : Unité Internationale par millilitre
- **µl**: microlitre
- **USA** : United state American
- **VIB** : Virus de l'Hépatite B
- **VIH** : Virus de l'Immunodéficience Humaine
- **Vs** : Valeur seuil

Résumé

Une hépatite correspond à une inflammation du parenchyme hépatique survenant en réponse à une agression et pouvant conduire à une nécrose hépatocytaire. Le terme d'hépatite virale est réservé aux hépatites provoquées par des virus à hépatotropisme dominant.

L'atteinte hépatique est la conséquence de la maladie elle-même et du traitement qu'elle nécessite; elle peut être modérée et transitoire, ou sévère voire fatale. Les transaminases sont des enzymes présentes dans le foie, mais également dans le muscle notamment le myocarde) et le rein. Elles sont libérées dans le flux sanguin en cas de lyse cellulaire, le dosage de leur concentration sérique est l'un des examens pratiqués pour l'exploration des lésions de l'hépatocyte. L'intérêt de doser ces enzymes, pour diagnostiquer une atteinte hépatique et de suivre son évolution peut aider à limiter les différentes formes d'hépatites .

Cette présente étude met en évidence La Prévalence de l'hépatite C à l'EHS de Psychiatrie Blida entre 2012 et 2016

Mots clés : hépatite – hépatotropisme - Les transaminases

Introduction

INTRODUCTION

L'homme vit dans des environnements complexes et il est exposé à un ensemble de maladies dangereuses et mortelles menaçant sa vie.

Le foie est le plus gros organe du corps humain, il est situé au côté supérieur droit de l'abdomen, juste sous le diaphragme et derrière la cage thoracique.

Le foie sert de filtre à l'organisme pour décomposer et éliminer les substances nuisibles dans tout ce qu'on mange, boit, absorbe par la peau et la respiration.

Il neutralise puis extrait ces toxines de l'organisme et joue en outre le rôle très important de transformer les éléments nutritifs des aliments qu'on consomme en énergie que notre corps peut utiliser.

En 2011, on estime que 180 millions d'individus sont porteurs de l'hépatite C dans le monde. Ces sujets constituent un réservoir de dissémination et sont à risque de développer une cirrhose et un carcinome hépato-cellulaire (CHC).

L'hépatite est une maladie inflammatoire du foie, provoquée par des infections bactériennes ou virales, l'abus d'alcool ou diverses toxines.

C'est une maladie caractérisée par la jaunisse, des douleurs abdominales et l'anorexie.

Le foie qui est l'un de ces organes affectés, est le siège de différentes complications aiguës et chroniques due à l'hépatite elle-même ou en rapport avec le traitement.

La surveillance biologique par une exploration fonctionnelle hépatique est indispensable. Le dosage des transaminases sériques, doit être systématique pour le diagnostic et le suivi de ces atteintes hépatiques malgré que ces enzymes ne soient pas spécifiques du foie et qu'elles peuvent être augmentées dans d'autres situations pathologiques.

Ces dernières années, des progrès thérapeutiques majeurs ont eu lieu, permettant d'obtenir un taux de guérison de l'hépatite C atteignant plus de 70%. L'absence de connaissances sur cette infection est ainsi associée à une perte de chance pour le patient. Il est donc important de promouvoir le dépistage de l'hépatite C chez les usagers de drogues afin de leur

permettre d'accéder aux traitements et de réduire le risque de contaminations secondaires. Cette population, chez qui un dépistage répété devrait être proposé, est en général peu intégrée dans les circuits de santé. De plus, en raison d'un accès veineux parfois rendu difficile, la ponction veineuse présente souvent un frein à l'acceptabilité du dépistage

Face à ce constat le présent travail est une étude, mais aussi une précision sur la prévalence de l'hépatite C au niveau **de l'EHS de Psychiatrie – Blida entre 2012 et 2016.**

Une étude rétrospective sur des patients au niveau **de l'EHS de Psychiatrie** CHU Blida. Ceci permet en vu de confirmer, et aussi de connaître le profil épidémiologique de l'hépatite virale c

Partie 1 : Données Bibliographiques.

HISTORIQUE :

La transfusion en masse a été à l'origine de nombreuses hépatites post-transfusionnelles (HPT).

-**Années 70** : on parle d'hépatite « non A-non B » pour désigner les hépatites transmissibles à l'homme et au chimpanzé, dues ni au virus de l'hépatite A, ni au virus de l'hépatite B à flou.

Suite à l'arrivée des tests sérologiques pour les virus des hépatites A et B, il a été mis en évidence qu'un grand nombre de sujets souffrant d'hépatites post-transfusionnelles n'avaient aucun marqueur d'hépatites A ou B, et l'existence d'un nouvel agent infectieux a alors été soupçonnée.

-**Années 80** : Des études ont montré que des chimpanzés infectés avec du plasma de sujet atteint d'hépatite NA-NB, développaient une maladie identique à celle de l'homme et que cette maladie était **d'origine virale**.

- **En 1989** : CHOO et collaborateurs découvrent le Virus de l'hépatite C par isolement partiel et séquençage de son génome à accès à de nombreuses informations sur ce virus mystérieux à : Synthèse des protéines virales correspondant aux séquences synthétisées à :

- Nombreuses précisions sur la structure du virus, l'expression des protéines virales et les réponses immunologiques développées ;
- Mise au point de tests de dépistage sérologiques.

Le clonage de l'intégralité du génome virale a permis de classer le virus, par comparaison avec les autres séquences virales connues, au sein de la famille des *Flaviviridae* dans un nouveau genre, celui des *Hepacivirus*.

Ce mode de découverte du VHC par la Biologie Moléculaire = cas singulier dans l'histoire des agents infectieux.

-**Mars 1990** : Dépistage systématique des AC anti VHC sur les dons de sang rendu obligatoire, d'où diminution importante du risque d'hépatite post-transfusionnelle (qui était estimé à près de 10%).

Dr Dominique B.2004

Chapitre I : Virus de l'Hépatite C

I.1 Taxonomie du virus de l'hépatite c

Le virus de l'hépatite C (VHC) a été identifié en 1989 par l'équipe de Michael Houghton (Chiron Corporation, Emeryville, Californie, États-Unis)

L'intégralité du génome viral a été clonée et la comparaison avec les autres séquences virales connues a permis de classer le VHC au sein de la famille des Flaviviridae, dans un nouveau genre, créé pour lui, et aujourd'hui exclusivement constitué de ses variants, le genre Hepacivirus. La recherche très active menée au cours des dix dernières années a permis de mieux connaître la structure du virus et de son génome et les fonctions des protéines virales, et de mieux comprendre les mécanismes de la variabilité génétique virale et les cinétiques de la réplication. De nombreux modèles expérimentaux cellulaires ou animaux ont été développés, mais un système de culture cellulaire productive fait encore défaut.¹

I.2 Structure du virus C :

I.2.A Morphologie :

Le virus de l'hépatite C est un petit virus enveloppé mesurant 55 à 65 nm de diamètre. Il est constitué, de l'extérieur vers l'intérieur :

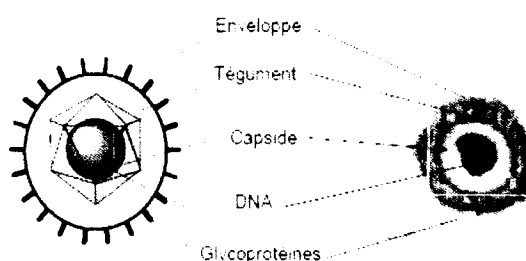


Figure 1 Structure du virus de l'hépatite C (VHC)

- d'une enveloppe lipidique au sein de laquelle sont ancrées deux glycoprotéines d'enveloppe;
- d'une capsidie protéique icosaédrique formée par la polymérisation de la protéine de capsidie C ;
- du génome viral. Constitué d'une molécule d'ARN simple brin, linéaire, Kaito ,1994

I.2.B ORGANISATION GENOMIQUE :

Le génome du VHC est constitué d'un ARN monobrin linéaire de polarité positive d'environ 9.6kb. Il comprend trois régions non codantes aux extrémités 5' et 3' :

- La région 5' non codante.
- Le cadre de lecture ouvert.

¹Jean-M.H, Henri A, Jean.C.N, Hélène P.L2006.

- La région 3' non codante.

Le génome code pour au moins 10 protéines virales distinctes et joue un rôle important dans la réplication et la traduction du virus.²

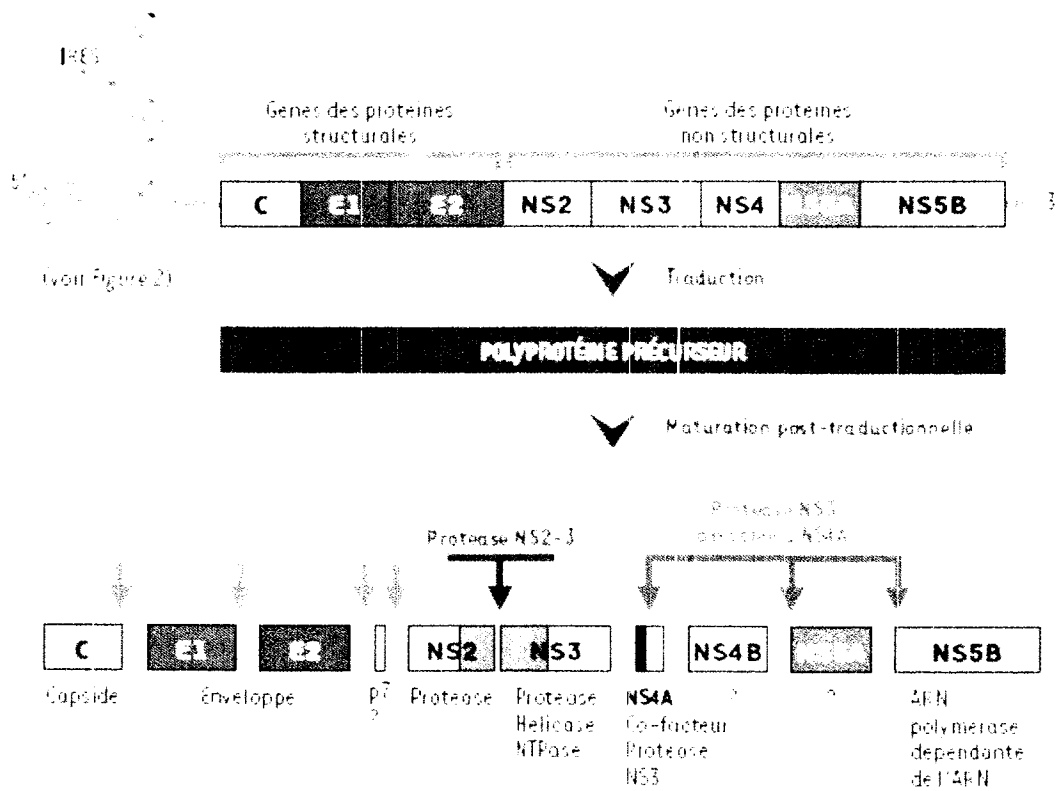


Figure 21 : représentation schématisique du génome viral HCV.

1.2-2.A La région 5' non codante :

L'extrémité 5' du génome viral dénommé région 5' non codante (5'NC) n'est pas traduite. Elle est d'une longueur de 341 nucléotides, c'est la région la plus conservée de génome.⁴ Elle joue un rôle important dans la réplication et la synthèse des protéine viral.⁵

1.2-2.B Le cadre de lecture ouvert:

Comporte 3 gènes codant les protéines structurales.

a-Gène C : code la protéine de capsid ou de core (21 Kd). Protéine de Capsid pourrait moduler le MB lipidique cellulaire, car est associée à des gouttelettes lipidiques dans le cytoplasme cellulaire alors rôle probable dans l'induction de la stéatose hépatocytaire.(Fréquente lors de l'hépatite C), et un rôle de signal de localisation nucléaire ; un motif N-terminal pourrait interagir spécifiquement avec l'ARN viral.⁶

²Kaito,1994.

³http://dicos.enslyon.fr/vie/image/V05_2H1_Hepatitis_7Repartition_HCV.jpg

⁴Paul Dény,2003

⁵Eugene et Costentin,2004

⁶CHOOQ et al., 1991.

b-Gènes d'enveloppe E1, E2 : codent les glycoprotéines transM de l'enveloppe virale E1, E2.

E1 et E2 peuvent former des hétéro dimères. Liaison membranaire par des domaines hydrophobiques et donc un clivage par des peptidases-signal cellulaires contenues dans le RE.

Grande variabilité en acides aminés dans la partie N-terminale de la protéine E2 à région hypervariable HVR1. HVR1 contient des épitopes neutralisants. Dans cette région, il existe un mécanisme de pression immunitaire pouvant aboutir à la sélection de mutants d'échappement.

c-Région codant les protéines non structurales(enzymes nécessaires à la réplication)

1.2-2.C Les protéines Virales

Région non structurale, gènes NS 2, 3, 4,5 codant :

a-Protéine NS2 forme, avec une partie de la protéine NS3, la protéase NS2/3, qui nécessite la présence de zinc pour agir.

b-Protéine NS3 inclut la protéase à sérine, une NTPase (triphosphatase nucléotidique) et une activité ARN hélicase. Rôle de NS3 dans le développement du carcinome hépatocellulaire⁷

c-Protéine NS4A : cofacteur de l'activité NS3 à essentielle pour clivage NS3/NS4A, NS4B/NS5A et également pour clivage NS4A/4B et 5A/5B.

NS4A : Dirige et stabilise les protéines vers les membranes, sites de protéolyse.

Il est important pour le développement de thérapeutique anti -VHC (inhibiteurs de protéase NS3).

d-Protéine NS5A : rôle dans le cycle viral ? Rôle crucial au cours de l'infection.

Inclut une séquence D d'AA dans la région C terminale (région ISDR) à Influence sur sensibilité à l'interféron : action plus ou moins inhibitrice sur la protéine kinase PKR induite par l'interféron (PK : rôle important dans action antivirale de l'IFN (phosphorylation du facteur eIF-2) et ensuite inhibition de l'action de l'interféron produit au cours de l'infection et donc persistance de l'infection virale

e- Protéine NS5B : activité ARN polymérase-ARN dépendante, assurant la réplication virale. Cible potentielle d'inhibiteurs spécifiques à potentiel thérapeutique. Un site de fixation de l'ARN a été identifié sur la séquence de la protéine.

-Extrémité 3' non codante : une région non traduite en 5' (D d'une souche à l'autre) ; une

⁷ BARTENSCHLAGER et LOHMANN, 2000.

Région poly-U de LD ; une région 3' terminale très conservée (région x) : rôle important dans l'initiation de la totalité du brin ARN -, et dans la régulation de la traduction des protéines virales. La multiplication du virus entraîne des mutations permanentes qui lui permettent d'échapper à la réponse immunitaire.

1.2.C Intérêt du génotype du VHC :

La connaissance du génotype est indispensable pour le choix de la durée du traitement et la prédiction de la réponse au traitement.

-Pas d'intérêt clinique à la détermination du sous-type (ex 1a, 1b...).

-La sévérité de la maladie (fibrose) n'a pas de relation avec le génotype.

1.2-3.A VARIABILITE GENOMIQUE :

Le VHC présente une importante variabilité génétique. En fonction des séquences nucléotidiques, le VHC a été subdivisé en génotypes eux-mêmes subdivisés en sous-types. Il existe ainsi 6 génotypes et plus de 80 sous-types du VHC.

Elle est importante (taux de substitutions : 10^{-3} / site/an) : à cause des erreurs de réplication, l'existence par l'ARN polymérase virale et l'absence de système de correction d'erreurs. Niveau de D différents en fonction des segments du génome du VHC :

-Prédomine dans les séquences codant la protéine d'enveloppe E2 : la présence d'une région hypervariable (HVR1) dans la partie 5' de ce domaine.

-Séquences NS5 et C à niveau de variabilité inférieur mais significatif.

-Par contre, région 5'NC hautement conservée d'un isolat à l'autre (malgré l'existence de certaines mutations en certains sites).

D importantes des séquences du VHC en fonction de la provenance. Classement des différents isolats en types et sous-types, plus des autres subdivisions en isolat ou quasi-espèces à taux de divergence de 30, 20, et 10% respectivement:

Dans un même type les génomes sont avec plus de 70 % d'homologie dans un même sous-type donc plus de 80 % d'homologie.

- il existe actuellement 6 génotypes majeurs (1 à 6) et 14 à 54 sous-types, la répartition géographique de ces types et sous-types est très hétérogène :

- Type 1b : prévalence importante au Japon et en Europe (<aux USA)
- Type 1a : prévalence plus importante aux USA
- Type 4 : prédominant en Afrique centrale et au Moyen-Orient
- Type 5: prédominance en Afrique du Sud

- Type 6: prédominance à Singapour et une extension au Vietnam

On constate des génotypes différents selon le mode de contamination:

- 1a et 3a sont plus fréquents chez les sujets jeunes et les toxicomanes
- 1b prédomine chez les sujets plus âgés, contaminés par transfusion sanguine ou sans facteur de risque.

Chez un même patient, on trouve généralement un seul type de virus, mais il peut exister des Coïnfections (rares) ou infections mixtes, le virus circule sous forme d'un mélange de variants génétiquement différents (jusqu'à 10%), ou quasi-espèces ;

Par mutations spontanées sur le génome pendant la réplication

Par intensité de la réplication Et par pressions sélectives (immunitaires, par interaction avec protéines de l'hôte)

Ceci peut être à l'origine:

de la persistance de l'infection virale par échappement à la pression immunitaire,

de la résistance au traitement par Interféron (traitement plus efficace si répertoire limité, sinon sélection des variants résistants)

du polymorphisme de l'infection du fait de la cytopathogénicité différente des variants.

1.3 -Cycle de multiplication

1.3.A -Fixation

Deux candidats récepteurs ont été proposés

CD81 (tétraspanine) présente la surface de nombreux types cellulaires comme les hépatocytes ou les lymphocytes B, fixe spécifiquement la glycoprotéine d'enveloppe E2 in vitro.

Récepteur des LDL-le mécanisme des étapes suivantes du cycle reste inconnu, en l'absence de système cellulaire d'étude adéquat.

Par analogie avec les Flaviviridae, on suppose qu'après l'endocyte, les génomes viraux sont libérés de leurs enveloppes dans des compartiments acides de type endosomes, puis largués dans le cytoplasme où ils vont servir d'ARN messagers pour la synthèse des protéines virales et de matrices pour la réplication.

1.3.B -Traduction

La synthèse des protéines virales commence par la traduction du cadre de lecture ouvert qui donne naissance à une polyprotéine.

L'extrémité 3' non codante du génome virale joue un rôle régulateur dans la traduction du cadre de lecture ouvert.

Le clivage de la polyprotéine est assuré par un au moins trois protéases, dont une cellulaire et deux virales,

Les protéines structurales sont clivées par une peptidase située dans la lumière du réticulum endoplasmique.

Les protéines non structurales sont clivées par deux protéases virales

- -d'une part la protéase NS2-NS3 dotée d'une activité auto catalytique en cis promettant le clivage NS2-NS3.
- -D'autre part la sérine protéase NS3 qui, associée à son cofacteur NS4A. Assure le clivage de l'ensemble des jonctions situées en aval.

1.3.C -Réplication

L'ARN polymérase de l'ARN (protéine NS5B) synthétise un brin d'ARN négatif à partir du génome, qui sert ensuite de matrice pour la synthèse de nombreux brins d'ARN positifs qui seront en capsides et enveloppés pour devenir les génomes des particules virales néoformées ou serviront de nouveaux messagers pour la synthèse des protéines virales.

1.3.D -Assemblage et excrétion des virions

L'assemblage est déclenché par l'interaction entre l'ARN génomique et la protéine de capside, qui aboutit à la formation de la nucléocapside. Par analogie avec les Flavivirus.

Les nucléocapsides pourraient ensuite s'envelopper par bourgeonnement à l'intérieur du réticulum endoplasmique et les particules virales pourraient être excrétées par exocytose.⁸

⁸Jean-M.H., Henri A., Jean-C. N., Helene P. L.2006.

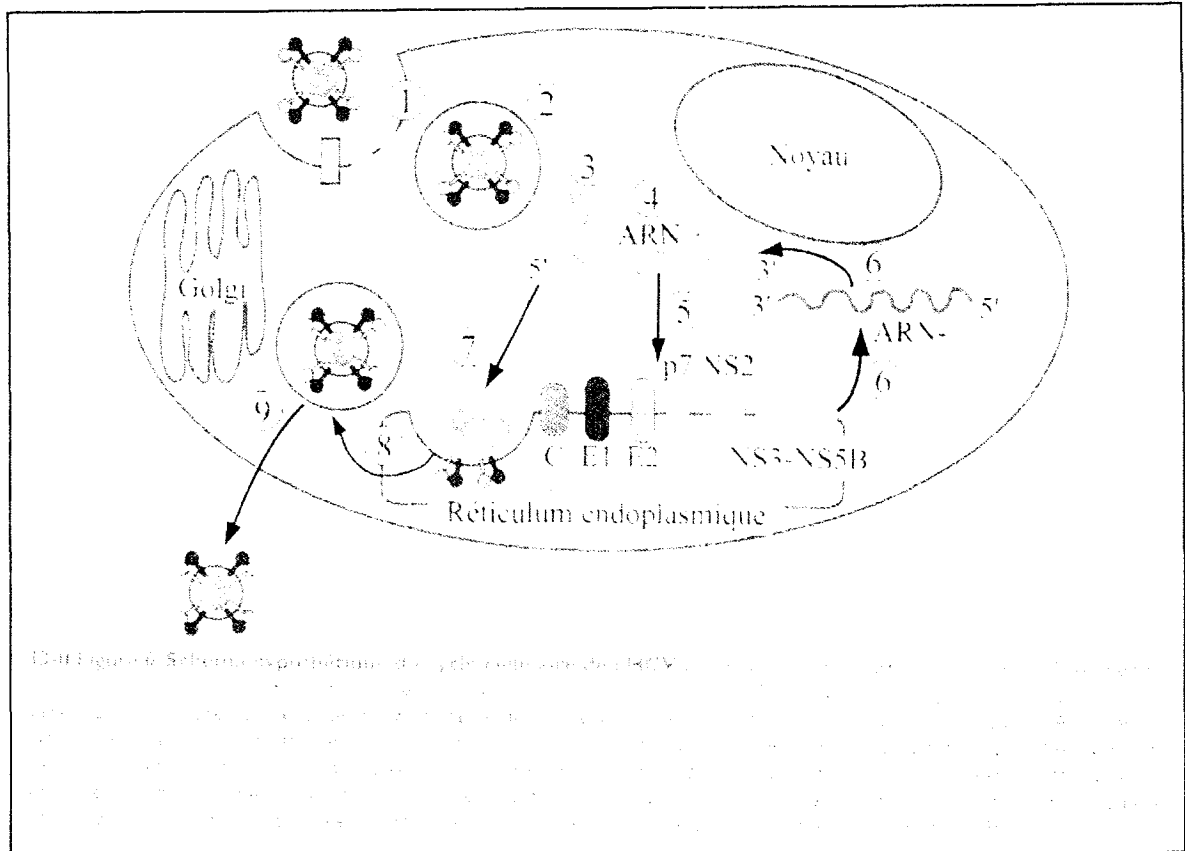


Figure 6. Cycle de vie du HCV.

I.4 - Variabilité génétique :

La variabilité génétique de ce virus est considérable. Elle est liée aux ratés de l'ARN polymérase qui, comme la rétro-transcriptase du VIH, est dépourvue de mécanisme de correction des erreurs.

Cela définit 6 génotypes, eux-mêmes subdivisés en sous-types (1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 3b...) et, chez un même individu on trouve souvent simultanément une myriade de variantes d'un même sous-type définissant une quasi-espèce.⁹

Le HCV, comme tout virus ARN, est soumis à une forte fréquence de mutations, supposée également répartie le long du génome de 10-3 substitutions par site et par an).¹⁰

Cependant, les mutations observées ne concernent que celles compatibles avec la survie du virus, localisées dans des séquences non responsables de fonctions vitales.

Le pourcentage de mutations le plus élevé est identifié dans la région codant pour l'enveloppe (20% à 40%), ce qui impliquerait, chez le malade, l'apparition de mutants échappant aux mécanismes de défense immunitaire déployés par l'organisme contre le virus présent au début de l'infection. Cette variabilité génétique doit aussi être considérée

⁹Jean-Marie Hureau 2006-2007.

¹⁰Ogata N, Alter HJ, Miller RH, Purcell REI, 1991.

au niveau des nouvelles souches répertoriées, ce qui pose un sérieux problème de génotypage, selon les séquences comparées.¹¹

Chapitre II : Epidémiologie du virus c

Depuis l'introduction des tests de dépistage du virus de l'hépatite C, un grand nombre de données sur l'épidémiologie du HCV ont été acquises:

L'hépatite C est une maladie relativement fréquente. Dans le monde, 180 millions de personnes sont porteurs chroniques du virus de l'hépatite C (HCV) et 3 à 4 millions de personnes sont nouvellement infectées chaque année.¹²

L'Algérie se situe probablement dans la zone de moyenne endémie entre (1% et 2%).¹³

II.1 -Modes de transmission:

II.1.A- Transmission par transfusion de sang et ses dérivés

La transmission du HCV est essentiellement parentérale et résulte de la mise en contact direct du sang d'un sujet indemne avec le sang d'un sujet infecté.¹⁴

Avant le dépistage systématique des donneurs de sang pour le HCV, la transfusion sanguine était le mode de transmission le plus fréquent.¹⁵

II.1.B-Toxicomanie

La séroprévalence des anciens toxicomanes est estimée entre 50% et 80% selon les études, l'incidence annuelle est d'environ 3600 nouveaux cas.¹⁶

Depuis le début de la décennie quatre-vingt-dix, le risque d'hépatite C lié à la contamination transfusionnelle a pratiquement disparu et la toxicomanie par voie intra veineuse est actuellement le principal mode de contamination par le virus de l'hépatite C (HCV).¹⁷

Le mode de transmission le plus courant est en partageant le matériel d'injection des drogues par l'intermédiaire des seringues et des aiguilles contaminées, Le virus peut survivre dans les seringues ou dans les tubes de lubrifiants pendant des semaines. Partager le matériel d'inhalation des drogues (les pailles ou les billets de banque) porte également un risque.¹⁸

¹¹Simmonds P, Holmes EC, Cha TA, 1993.

¹²OMS 2013.

¹³Dr.NabilB. 2008.

¹⁴Valla D 1995.

¹⁵Dr.Belater Malek, 2002.

¹⁶Van Der Poel, 1999.

¹⁷ (Bourliere M, Barberin JM, Rotily M, 2002), (Filoche B, 2002)

¹⁸Michael Carter, 2010.

II.1.C - Transmission materno-fœtale "verticale"

Il n'y aurait pas de transmission du HCV par le lait maternel.¹⁹

La transmission périnatale est possible mais très rare (5% de risques de transmission).

Ce risque augmente cependant considérablement dans le cas de mères Co-infectées par le VIH et l'hépatite C (20% de risques de transmission).²⁰

Certaines études ont trouvé un risque de transmission de l'hépatite C pendant l'allaitement mais les résultats n'étaient pas concluants. Cependant, dans les pays où des alternatives sans danger à l'allaitement maternel sont disponibles, toutes les mères séropositives devraient éviter d'allaiter.²¹

II.1.D - Transmission sexuelle

La majorité des études indiquent que seul un faible pourcentage de la population, habituellement de 0% à 3% contracte le HCV lors de relations hétérosexuelles non protégées avec un partenaire HCV positif, monogame à long terme.²²

Elle existe en cas de lésions (herpes ou microlésions lors de pénétration anale), de présence de sang (règles) et de rapports sexuels traumatiques.²³

La transmission par voie sexuelle de l'hépatite C est moins fréquente mais arrive quand même. Elle est plus probable si vous souffrez également d'une autre infection sexuellement transmissible. De plus, les rapports sexuels particulièrement vigoureux ou les rapports avec pénétration anale sont plus susceptibles de transmettre l'infection. Le sexe oral est peu risqué.

Le virus est présent dans la salive mais s'embrasser n'est en général pas risqué moins que les deux partenaires aient des coupures dans la bouche ou des gencives saignantes.²⁴

II.1.E - Transmission nosocomiale

La transmission nosocomiale serait responsable d'environ 15% des cas de l'hépatite C.²⁵ La contamination nosocomiale pourrait expliquer la prévalence élevée chez hémodialyses 10% à 30% et autres sujets sont à risque les hémophiles et les transplantés d'organe. Mais aussi par acte médico-chirurgical (endoscopies digestives) et transfusion ignorée ou oubliée.²⁶

¹⁹Zanetti et Tanzi 1999 RoudotThoraval 2000.

²⁰Cripsile-de-France et INPES, 2009.

²¹Michael Carter, 2010.

²²Breesters. D.ReesinkH.w 1993.

²³Cripsile-de-France et INPES, 2009.

²⁴Michael Carter, 2010.

²⁵Alter, 1995.

²⁶Dr. Dominique Bettinger, 2004.

Beaucoup de personnes ont été contaminées par les dons de produits sanguins au cours de procédures médicales, avant la mise en place du dépistage et de la stérilisation systématiques de ces derniers.²⁷

II.1.F-Transmission professionnelle

Le risque de contamination par le HCV lors de blessures accidentelles avec du matériel souillé est faible autour de 3%, mais il pourrait atteindre 10% quand le sang de la personne contaminant contient de l'ARN du HCV. Ce risque paraît 10 fois plus faible que celui de l'hépatite virale B (30%); en revanche, il est plus important que celui concernant le VIH évalué à 0.3%.²⁸

II.1.G- Autres modes de transmission

Environ 20% des patients ayant une infection par le VIH n'ont pas de facteurs de risque identifiés.²⁹

L'hépatite C se transmet partir de matériel contaminé par du sang infecté: matériel d'injection, de sniff, de consommation de crack, de tatouage, de piercing ou objets quotidiens susceptibles d'être partagés (brosse dents, rasoir, pince épiler, tondeuse).³⁰

II.2 - Recommandations de dépistage

Les recommandations de dépistage du HCV remontent à 2001.Elles préconisaient un dépistage ciblé sur les personnes ayant un ou plusieurs facteurs de risque³¹:

- ✓ Personnes ayant reçu des produits sanguins stables avant 1988 ou des produits sanguins labiles avant 1992 ou une greffe de tissu, de cellules ou d'organe avant 1992
- ✓ Personne ayant utilisé au moins une fois dans leur vie des drogues par voie Intraveineuse
- ✓ Personnes ayant eu une exposition à des actes de soins invasifs avant 1997
- ✓ Personnes hémodialysées.
- ✓ Enfants nés de mère séropositives pour le VIH.
- ✓ Partenaires sexuels et membres de l'entourage familial de sujets atteints d'hépatite C.
- ✓ Personnes séjournant ou ayant séjourné en milieu carcéral.
- ✓ Personnes originaires de ou ayant reçu des soins dans des pays de forte prévalence du HIV (Asie du Sud-Est, Moyen-Orient, Afrique, Amérique du Sud).
- ✓ Personnes ayant des tatouages, piercing, mésothérapie ou acupuncture. sans utilisation de matériel à usage unique ou personnel.
- ✓ Personnes chez lesquelles sont trouvées des valeurs élevées d'ALAT sans cause connue.

²⁷Michael Carter, 2010.

²⁸Dr.Belatef Malek, 2002.

²⁹Naveau et Bilian et al. 2003.

³⁰Crips ile-de- France et INPES, 2009.

³¹Pr Daniel D. 2014.

Remarque:

L'hépatite C a été identifiée en 1989, mais les tests de dépistage n'ont été mis au point que quelques années plus tard. Jusqu'en 1992, le sang et les produits sanguins ne faisant pas systématiquement l'objet d'un dépistage du virus de l'hépatite C. Par conséquent, il se peut que vous ayez été exposé au virus de l'HIV si vous avez reçu une transfusion avant 1992.

Avant 1997 certains examens médicaux ont été la cause de contaminations (acupuncture, soins dentaires, endoscopie) mais ce risque est rarissime aujourd'hui en raison d'utilisation d'instruments à usage unique et la mise en place de mesures de stérilisation très strictes.

II.3 -Génotypes et épidémiologie

Les six principaux génotypes du HCV ont une répartition géographique qui leur est propre.

Prévalence et distribution géographique des types et sous-types du VHC

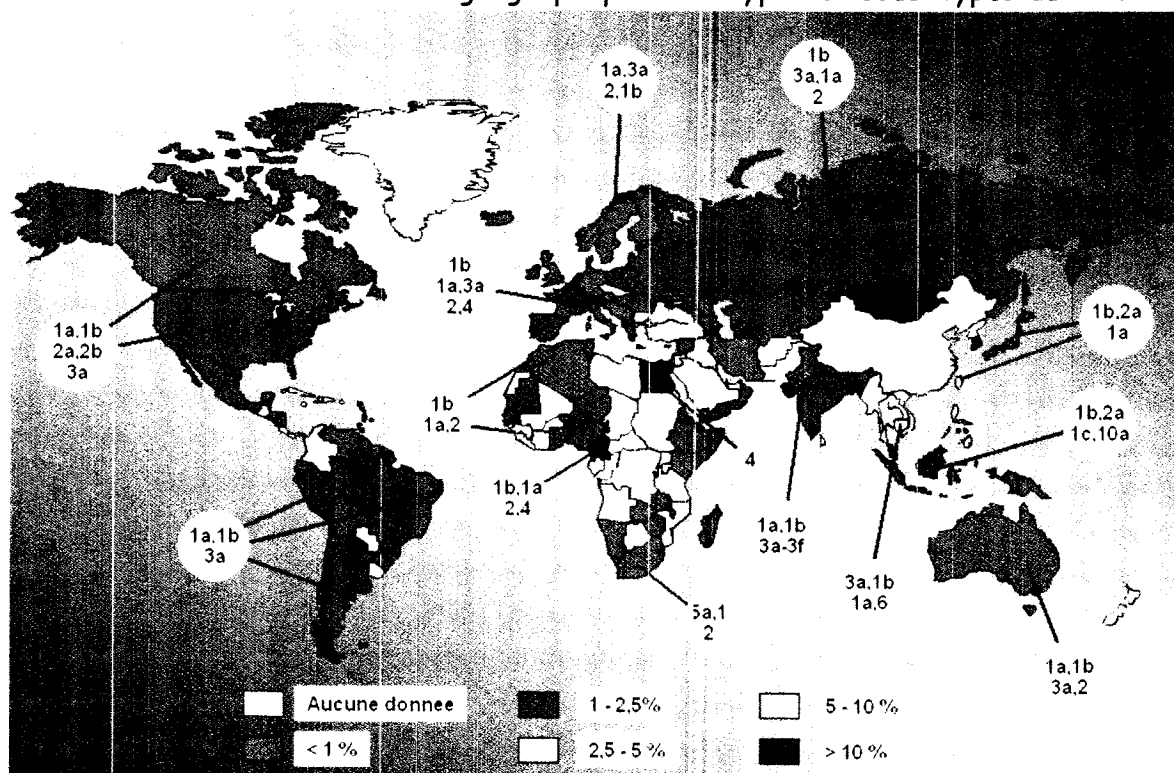


Fig. 11.4. Carte de répartition géographique des types et des sous-types de HCV.

Il existe actuellement 6 génotypes majeurs (1 à 6) et 14 à 54 sous-types, la répartition géographique de ces types et sous-types est très hétérogène:

- Type 1a: prévalence plus importante aux USA.
- Type 1b: prévalence importante au Japon et en Europe (<aux USA).
- Type 4 : prédominant en Afrique centrale et au Moyen-Orient.
- Type 5: prédominance en Afrique du Sud.
- Type 6: prédominance Singapour et une extension au Vietnam.

On constate des génotypes différents selon le mode de contamination:

- 1a et 3a sont plus fréquents chez les sujets Jeunes et les toxicomanes.
- 1b, 2a prédomine chez les sujets plus âgés, contaminés par transfusion sanguine ou sans facteur de risque.

Chez un même patient, on trouve généralement un seul type de virus, mais il peut exister des Coïnfections (rares) ou infections mixtes. Le virus circule sous forme d'un mélange de variantes génétiquement différents (Jusqu'à 10%), ou quasi-espèces;

- Par mutations spontanées sur le génome pendant la réplication.
- Par intensité de la réplication.
- Et par pressions sélectives (immunitaires, par interaction avec protéines de l'hôte)

Ceci peut être à l'origine:

- De la **persistance** de l'infection virale par échappement à la pression immunitaire.
- De la **résistance** au traitement par Interféron (traitement plus efficace si répertoire limité, sinon sélection des variantes résistants).

Du **polymorphisme** de l'infection du fait de la cytopathogénicité différente des variants.³³

En Algérie:

Le génotype 1a, 1b, 1c, 2,3 et aussi le génotype 4 prédominent en Algérie, le génotype 1 représente 78% des cas.

La prévalence des anticorps anti-VIH est de 0.49% chez le donneur de sang, 23,8% chez les hémodialyses, 31% chez l'hémophile. Dans la population générale, elle serait d'au moins 1%.³⁴

II.4 -Les coïnfections par le HCV et le VIH

De par leur voie de transmission commune, la coïnfection par le HCV et le VIH est fréquente; une infection par le HCV touche ainsi 10% à 30% des sujets infectés par le VIH.

L'infection virale C n'a pas d'influence sur la progression de l'infection VIH. Mais à l'inverse, l'infection VIH a un effet néfaste sur l'infection HCV:

- ✓ Une augmentation de la réplication du HCV et donc de la charge virale C (augmentation de la transmission mère-enfant ou sexuelle du HCV).

³³Dr. Nabil B. 2008.

³⁴Pr. Berkane S. et Pr. Debzi N. 2012.

✓ Une sévérité accrue des lésions hépatiques (évolution plus fréquente et plus rapide vers la cirrhose).

✓ Les thérapies anti-VIH (anti-protéases) peuvent également être responsables d'une hépato toxicité parfois sévère, sans d'avoir d'efficacité sur le HCV. Enfin le traitement anti-HCV est souvent moins efficace chez les malades.³⁵

Chapitre III :

III.1 PHYSIOPATHOLOGIE

- Peu de guérison spontanée.
- 20% à 30% des patients évoluent vers la cirrhose.
- En moyenne 25 ans après la contamination.

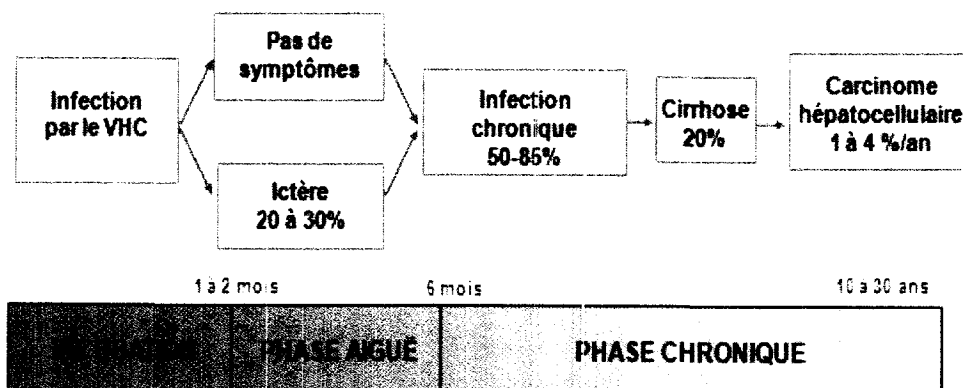


Figure 1.3. L'évolution de l'infection par le VHC.

Après une période d'incubation d'environ 1 à 2 mois, l'infection par le HCV passe le plus souvent inaperçue, car elle est asymptomatique dans plus de 70 pourcent des cas, et s'accompagne d'une symptomatologie modérée dans moins de 30% des cas. La prise de conscience dans ces dernières années de ces modes de transmission a conduit à vérifier l'absence de contamination des dons de sang et à exclure les donneurs à haut risque; de ce fait, le risque de transmission du HCV a presque totalement disparu. A présent, ce sont les pratiques liées à l'utilisation des drogues intraveineuses qui constituent le principal mode de transmission dans les pays industrialisés.

Entre 15 et 50% de patients se débarrassent spontanément du virus sans développer d'infection chronique. L'élimination spontanée de l'infection HCV est corrélée avec des facteurs tels que: le jeune âge à l'infection, le sexe féminin, l'ictère et la compétence immunitaire. L'infection chronique est définie, par analogie avec l'hépatite B chronique, comme la persistance de l'ARN du HCV dans le sérum plus de 6 mois après le début des symptômes,

³⁵Dr. Nabil B. 2008.

³⁶Dr. Nabil B. 2008.

La plupart des patients développent dans les décennies qui suivent leur infection chronique les caractéristiques histologiques d'hépatite chronique avec une sévérité variable y compris, l'inflammation et la nécrose des cellules du foie et de la fibrose, Parmi ces sujets, 20% développent une cirrhose hépatique dans la première ou deuxième décennie de l'infection, Les patients atteints de cirrhose ont un risque élevé de développer un carcinome hépatocellulaire, avec une incidence de 1 à 4% par an (70), Les facteurs associés avec la progression de la maladie comprennent: l'âge élevé à l'infection, le sexe masculin, la consommation d'alcool, la coinfection par le VHB ou le VIH (notamment ceux avec un taux bas de CD4 (<200/ml))³⁷.

III.1.A L'hépatite C aigue:

Seul 20% des personnes infectées par le virus de l'hépatite C se débarrassent de ce virus naturellement, les autres développent une hépatite C chronique.³⁸

L'incubation moyenne est de 7 à 8 semaines, mais elle peut être très variable (2 à 26 semaines). La phase prodromique est rare. L'hépatite aigue C n'est ictérique que dans une minorité de cas (20%) et est **sans symptômes dans la plupart des cas (80%)**.

Les symptômes ne sont pas spécifiques : fatigue, nausées, douleurs de l'hypochondre droit, suivies par l'apparition d'urines foncées et d'un ictère. Ils sont semblables à ceux observés au cours d'autres hépatites virales.

Ainsi, le diagnostic clinique de l'hépatite aigue C est rarement fait. L'hépatite aigue sévère est exceptionnelle.

Dans les formes symptomatiques, les symptômes durent généralement de 2 à 12 semaines.

Le premier marqueur de l'infection par le HCV est l'apparition d'ARN viral détectable dans le sérum par PCR dès la première semaine après la contamination. Les anticorps anti-HCV sont détectables au stade aigu de l'hépatite dans la plupart des cas mais, dans certains cas, la séroconversion survient tardivement une à plusieurs semaines après le pic des transaminases. Les transaminases s'élèvent avant l'apparition des symptômes.

Le pic des transaminases est le plus souvent supérieur 10 fois la normale, même si des valeurs plus basses peuvent être observées

En cas de guérison de l'hépatite aigue C, les transaminases se normalisent et l'ARN viral devient indétectable les anticorps anti-HCV restent détectables pendant de nombreuses années. En cas de passage à la chronicité, les transaminases peuvent se normaliser ou rester modérément élevées. L'ARN viral reste détectable.³⁹

³⁷Dr Nabil B.2008.

³⁸Michael Carter, 2010.

³⁹Université Médicale Virtuelle Francophone 2008-2009.

III.1.B -L'hépatite fulminante:

Au Japon, elle a été associée 40-60% des cas d'hépatite fulminante non-A non-B, mais est très rarement mise en cause dans les pays occidentaux.⁴⁰

L'hépatite est définie comme fulminante ou subfulminante, quand une encéphalopathie apparaît. L'hépatite est fulminante quand le délai entre le début de l'ictère et celui de l'encéphalopathie est inférieur à 2 semaines, et elle est subfulminante quand ce délai est supérieur à 2 semaines.⁴¹

III.1.C -L'hépatite C chronique:

L'infection chronique est définie, comme la persistance du l'ARN du HCV dans le sérum plus de 6 mois après le début des symptômes.

Le terme de chronique a rapport avec le temps. Ainsi, l'hépatite chronique s'inscrit dans la durée, précisément lorsque le virus persiste dans l'organisme après la phase aigüe.⁴²

Les personnes dont l'infection est chronique continuent d'être contagieuses et peuvent transmettre le virus. Si une personne continue d'être infectée pendant plusieurs années.⁴³

Au cours d'une période de 25 à 30 ans, les cellules hépatiques saines sont remplacées par du tissu cicatriciel et dans environ un cas sur quatre, la cirrhose (**fibrose généralisée du foie**) s'installe.

La cirrhose peut nuire au fonctionnement du foie et conduire une grave maladie qui pourrait s'avérer mortelle. Deux facteurs accroissent le risque de décès chez une personne souffrant d'hépatite C, soit l'utilisation de drogues intraveineuses ou la consommation d'alcool en grande quantité. Mais, même en présence de cirrhose, vous pouvez vous sentir bien.

Environ deux à cinq pour cent des personnes souffrant de cirrhose présentent une défaillance du fonctionnement des cellules du foie chaque année (**insuffisance hépatique**). Environ deux ou trois personnes sur cent atteintes d'hépatite C souffriront un jour de **cancer du foie (hépatome)**. Le cancer du foie ne survient que lorsqu'il y a une cirrhose du foie. Les tests de dépistage reposent sur une échographie et sur une analyse sanguine qui vérifie la présence d'une protéine (alpha-Foteo protéine) fabriquée par les cellules cancéreuses.⁴⁴

⁴⁰Ranger.S 1991.

⁴¹Buffet et Pelletier, 1994.

⁴²Dr. Nabil B. 2008.

⁴³Michael Carter 2010.

⁴⁴Gregory Taylor M. Serv. soc., TSCA, 2011.

Hépatite C aigue

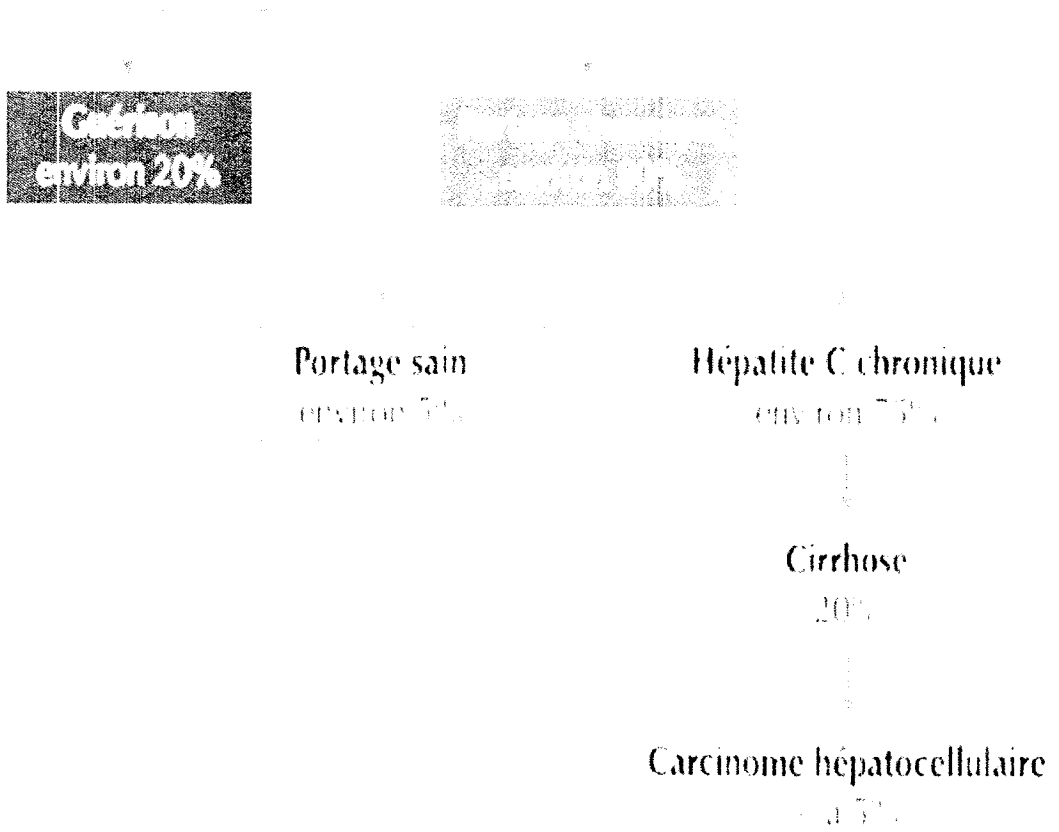
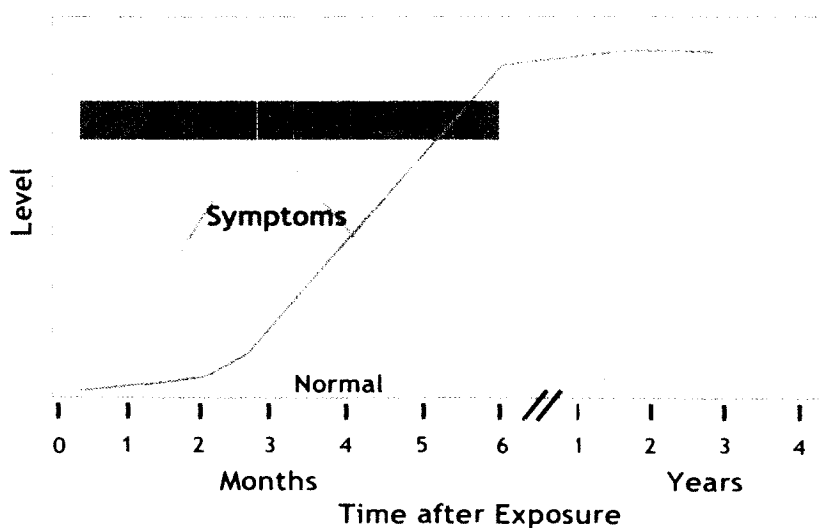


FIG. 4. ANAËS 2001. (1) (2) (3) (4) (5) (6) (7) (8) (9) (10) (11) (12) (13) (14) (15) (16) (17)

⁴⁵REF ANAES 2001.

III.2 - Cinétique des marqueurs de l'hépatite C :

Acute HCV Infection with Recovery

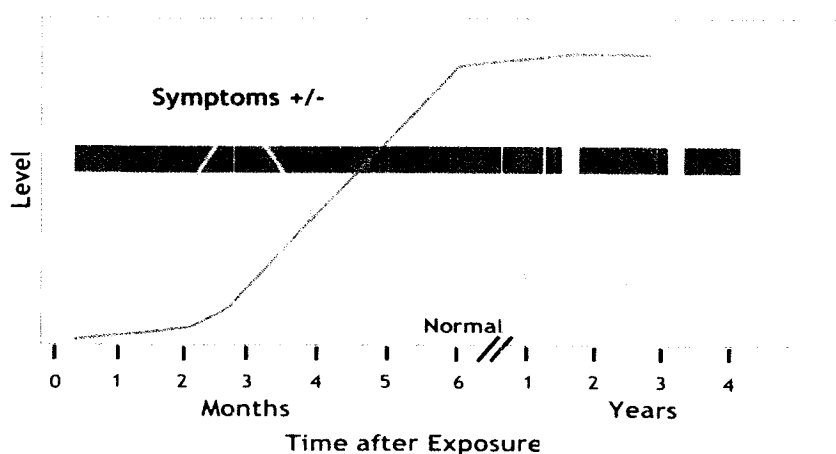


Source: Adapted from MMWR 1998; 47(No. RR19)

Figure 7. Cinétique des marqueurs sérologiques dans une hépatite C aiguë.

- **Symptômes** : après la période d'incubation du virus.
- L'élévation des transaminases surtout les ALAT correspond à la période symptomatique et reviennent définitivement à la normale avant les six premiers mois de l'infection.
- **Ac anti-HCV** détectable après une fenêtre sérologique longue de 66j (38 à 94j).
- **ARN viral** n'est plus détectable après les six premiers mois.

Acute HCV Infection Evolving to Chronic Infection



Source: Adapted from MMWR 1998; 47(No. RR19)

Figure 8. Cinétique des marqueurs sérologiques dans une hépatite C chronique.

- L'ARN viral est détectable au-delà des 6 premiers mois de l'infection, de façon intermittente
- Il existe en parallèle une augmentation fluctuante des ALAT avec des pics plus modérés que le pic de la phase aigüe.

Ac anti-HCV	ARN d'HCV	Interprétation
Négatif	Négatif	Absence d'infection
Positif	Négatif	Infection guérie
Négatif	Positif	Phase précoce de l'infection Aigue a HCV (fenêtre sérologique) Ou infection chronique a HCV chez une personne avec immunité humorale déficiente
Positif	Positif	Infection Aigue ou Chronique a HCV

© 2010 by Elsevier Inc. Tous droits réservés. Publié par Elsevier Inc. 111, rue de la Vierge, 75005 Paris, France

III.2.A Cas particuliers:

III.2-1.A -Le nouveau-né de mère HCV positif et ARN/HCV positif:

- Présence d'anticorps passifs
- Détection d'ARN/HCV vers 2/3 mois d'âge (des faux négatifs ont été décrits plus tôt)
- Renouvelée vers après plus de 6 mois si positive, pour faire le diagnostic d'infection chronique.

III.2-1.B -Un sujet immunodéprimé, en l'absence d'anticorps:

Penser une détection de l'ARN/HCV si la sérologie est négative, c'est le cas lors du bilan l'infection par HIV avec une immunodépression marquée et/ou élévation des transaminases et chez les hémodialysés.

III.2-1.C -chez un sujet séropositif et ARN/HCV non détectable:

Répéter la détection d'ARN après environ 6 mois pour affirmer l'éradication de l'infection.⁴⁶

⁴⁶Dr. Nabil B 2008.

Remarque :

- ✓ La présence d'anticorps anti-HCV ne permet pas de distinguer les porteurs cliniques des patients guéris. La recherche de l'ARN du HCV par un test RT-PCR qualitatif est recommandée pour déterminer s'il y a Présence d'une virémie.
- ✓ La mesure de la charge virale sera déterminer la quantité de virus présente dans le sang. Elle permet de vérifier l'efficacité du traitement et, dans certains cas, de déterminer la durée du traitement.
- ✓ La détermination du génotype du virus sert à évaluer les chances de guérison par le traitement (qui est plus efficace sur les génotypes 2 et 3) et déterminer la durée du traitement.

III.3 -Diagnostic virologique d'une hépatite C

III.3.A -Objectifs

III.3-1.A -Diagnostic de l'infection au cours:

- ❖ d'une hépatite aigue,
- ❖ d'une hépatite chronique
- ❖ ou en cas de maladie extra-hépatique habituellement associée à l'hépatite C

III.3-1.B - Suivi de l'infection avec la prise en charge thérapeutique de la maladie:

- ❖ décision de traiter,
- ❖ choix du traitement optimal,
- ❖ évaluation de la réponse au traitement.

III.3-1.C -Dépistage de l'infection dans les populations à risque⁴⁷.

En début d'infection, les anti-HCV ne sont pas détectables, on se trouve alors dans la phase dite de « fenêtre sérologique ». Ils n'apparaissent qu'au bout de 7 à 8 semaines après la phase aigüe de l'infection.⁴⁸

L'ARN du HCV peut quant lui être détecté 1 à 3 semaines après l'infection soit en moyenne un mois avant l'apparition des anticorps.

Chez les patients suspectés d'hépatite C aigue, il faut donc rechercher à la fois les anticorps anti-HCV, détectés par des techniques immuno-enzymatiques de 3^{ème} génération, et l'ARN viral, détecté par des techniques de biologie moléculaire. La mesure de la charge virale est idéalement réalisée par PCR en temps réel et permet de quantifier le virus de 10 à approximativement 10⁷ UI/ml.

La présence de l'ARN du HCV en l'absence des anticorps anti-HCV est très fortement en faveur d'une infection aigüe. Celle-ci devra être confirmée par la séroconversion quelques semaines plus tard.

Lors de l'infection aigüe, il peut être mis en évidence à la fois l'ARN viral et les anticorps anti-HCV. Dans ce cas il est difficile de faire la différence entre une hépatite C aigue et une autre cause d'hépatite aigue chez un porteur chronique de l'hépatite C.

Le test de «4^{ème} générations» détectant l'antigène de capsid virale et les anticorps anti-HCV permet de réduire la fenêtre sérologique d'un mois environ.⁴⁹

Une hépatite C aigue peut être exclue en l'absence à la fois des anticorps anti-HCV et de l'ARN viral, ou lorsque seuls les anticorps anti-HCV sont présents. Cependant, il existe quelques cas d'hépatites aigües avec ARN temporairement indétectable du fait d'un

⁴⁷Dr Nabil B. 2008.

⁴⁸Pawlotsky JM, 2002.

⁴⁹Laperche S, Marrec NL, Girault A, Bouchardeau F, Servant-Delm as A, Maniez-Montreuil M, et al, 2005.

contrôle partiel de la réplication. Il faudra alors refaire la recherche de l'ARN viral afin de s'assurer qu'il ne s'agissait pas d'une hépatite C aigue qui pourrait évoluer vers une hépatite C chronique. En dehors de ces cas, la présence d'anticorps anti-HCV en l'absence d'ARN viral signe une hépatite C ancienne guérie.⁵⁰

Le diagnostic de l'hépatite C chronique repose sur la présence simultanée des anticorps anti-HCV et de l'ARN du VHC chez des patients présentant des signes d'hépatite chronique. Suite à une hépatite C aigue diagnostiquée, la persistance de l'ARN du HCV au-delà de six mois définira l'hépatite C chronique. Une réplication virale en l'absence d'anticorps peut être occasionnellement observée chez les sujets profondément immunodéprimés (VIH)⁵¹, ou hémodialysés⁵².

Une fois le diagnostic d'hépatite C chronique posé, le génotype viral doit être déterminé car il conditionne la décision thérapeutique de même que l'évaluation de l'atteinte hépatique. La quantification de l'ARN viral sera essentielle au suivi du traitement de l'hépatite C chronique.

III.3.B -Diagnostic de l'infection, en deux étapes:

III.3-2.A -Première étape: diagnostic indirect:

La recherche d'un **contact** viral par la détection d'anticorps anti-HCV doit toujours être la première démarche:

- fenêtre sérologique longue, en moyenne 56 jours (38 à 94).
- technique ELISA.
- une positivité (répétable) doit être confirmée:
 - Sur un autre prélèvement
 - Et par une autre trousse ELISA.

III.3.B.1.1 -Tests sérologiques de détection des anticorps anti-HCV:

Les anticorps anti-HCV peuvent être détectés dans le sérum ou le plasma par des tests immun-enzymatique de type "enzyme-linked immunosorbent assay" (ELISA).

Bonne sensibilité/spécificité des tests ELISA de troisième génération.

Les anticorps peuvent être indétectables à cause d'une immunodépression profonde (VIH) ou pendant la phase aigüe de l'infection (fenêtre sérologique de 70 jours en moyenne).

III.3.B.1.2 -Tests sérologiques de détermination du génotype:

Sérotypage

Le génotype du HCV peut être déterminé par la mise en évidence d'anticorps spécifiques des 6 types par un test ELISA.

⁵⁰Bouvier-Alias M, Patel K, Dahari H, Beaucourt S, Larderie P, Blatt L et al, 2002.

⁵¹Thio CL, Nolt KR, Astemborski J, Vlahov D, Nelson KE, Thomas DL, 2000.

⁵²Mek AS, Chien D, Choo QL, Chan TM, Chiu EK, Cheng LK, et al, 1993.

-Incapable d'identifier les sous-types.

-la concordance du sérotypage avec les tests moléculaires de détermination du génotype est globalement de l'ordre de 95%, meilleur pour le type 1 que pour les autres types.

-la sensibilité du test est moins bonne chez les immunodéprimés.⁵³

III.3-2.B -Deuxième étape: diagnostic direct:

III.3.B.2.1 Tests de détection quantitative de l'ARN du HCV:

Ces tests sont fondés sur le principe de l'amplification de la cible c'est-à-dire la synthèse au cours d'une réaction enzymatique cyclique d'un grand nombre de copies du génome viral qui peuvent ensuite être détectées par différentes méthodes; **la détection d'ARN/HCV** affirme la réplication virale et l'infection actuelle, trois (03) méthodes standardisées pour le diagnostic:

Par PCR qualitative sensibilité (50 UI/ml): **polymérase chain réaction** utilise une ADN polymérase thermostable et des cycles successifs de températures différentes pour synthétiser des copies d'ARN simples-brin.

Par TMA 20 UI/ml:**transcription-mediated amplification** utilise une T7 ARN polymérase à température constante pour synthétiser des copies d'ARN simple-brin

La persistance de détection d'ARN/HCV supérieur à 6 mois affirme la chronicité de l'infection.

III.3.B.2.2 Tests de mesure de la charge virale:

La charge peut être mesurée dans le sang ou le plasma par deux types de techniques

-Technique d'amplification de la cible (PCR ou TMA) :

Les techniques actuelles de quantification sont fondées sur une amplification compétitive de l'ARN viral avec un ARN synthétique dont une quantité connue est ajoutée à l'échantillon au début de la réaction. La charge virale est calculée par comparaison à une courbe standard établie en parallèle. Ces techniques compétitives ont tendance à être remplacées par la PCR dite **en temps réel**(12 UI/ml),ou la quantification d'ARN se fait pendant la réaction.

Cette technique quantitative très sensible pourrait permettre la disparition des techniques purement qualitatives de détection de l'ARN viral; elle est très spécifique et permet la quantification de la charge virale sur un intervalle de valeurs étendu.

⁵³Dr. Nabil B. 2008.

-Technique d'amplification du signal "ADN branchés":

Qui permet la détection sans amplification de faibles quantités d'ARN viral après hybridation a un support solide.

Une unité standardisée de mesure de la charge virale du HCV est aujourd'hui disponible:

L'unité internationale (UI/ml). Elle doit être utilisée, quel que soit la technique employée, à l'exclusion de toute autre unité de mesure.⁵⁴

III.3.B.2.3 -Tests moléculaires de détermination du génotype:

Génotypage

La détermination du génotype peut être réalisée par des techniques de biologie moléculaire, toutes fondées sur une PCR initiale (technique dites de "génotypage").

-Séquençage: la méthode de référence est le séquençage direct de la région NS5B du génome viral, suivi de l'alignement de la séquence obtenue avec des séquences de référence et de leur analyse phylogénique.

-en pratique clinique, le génotype peut être déterminé par PCR de la région 5' non codante: ethybridation des produits de la PCR à des bandelettes de nitrocellulose portant des sondes oligonucléotidiques spécifiques des principaux types et sous-types.⁵⁵

III.3.B.2.4 Tests de détection et de quantification de l'antigène de capsid du HCV:

Un test ELISA de détection qualitative de l'antigène de capsid du HCV a été développé pour permettre de réduire la fenêtre sérologique pendant la séroconversion en quantification des dons de sang.⁵⁶

⁵⁴Dr. Nabil B.2008.

⁵⁵Dr. Nabil B. 2008.

⁵⁶Dr. Nabil B. 2008.

Chapitre IV : Diagnostic et traitement

IV.1 Démarche diagnostic:

Une sérologie (AC anti-HCV) découverte positive pour une première fois doit être systématiquement contrôlée sur un second prélèvement.

En cas de positivité des AC anti-HCV la confirmation de l'infection doit se faire par la Recherche de l'ARN du HCV par PCR qualitative puisque l'élimination spontanée du virus (Guérison) est possible, est ces patients garderont des AC anti-HCV.

Vu la sensibilité et la spécificité des tests sérologiques actuels la confirmation par un immun blot n'est plus nécessaire, puisqu'il ne prouve pas l'infection mais seulement la présence des AC, en plus il existe relativement beaucoup de cas indéterminés.

Chez un sujet immunodéprimé, quel que soit le résultat de la recherche des anti-HCV (négatif ou positif), s'il existe des arguments cliniques, biologiques (élévation de l'ALAT) ou Épidémiologiques (facteurs de risque) pour suspecter une infection par le HCV, la recherche Qualitative de l'ARN du HCV doit être faite. Il est inutile de répéter la recherche des AC anti- HCV pour surveiller l'évolution des hépatites C chroniques non traitées de l'adulte.⁵⁷

NB: il y avait une évolution des tests sérologiques du dépistage du HCV. (Voir annexe 2).

IV.2 Prise en charge thérapeutique des infections par le HCV:

Le but du traitement de l'hépatite C est d'éradiquer le virus afin de prévenir les complications liées à l'atteinte hépatique telles que l'inflammation, la fibrose, la cirrhose, le carcinome hépatocellulaire, voire le décès. L'objectif premier est d'obtenir une réponse virologique soutenue, c'est-à-dire un ARN viral indétectable 24 semaines après l'arrêt du traitement.

Quand le virus est éradiqué chez les patients non cirrhotiques, la progression de l'inflammation et de la fibrose est généralement stoppée. Une amélioration de l'état hépatique est souvent observée. Cependant, chez les sujets cirrhotiques le risque de survenu d'un CHC persiste.⁵⁸ (Voir annexe 2)

Aujourd'hui, le traitement standard comprend de l'interféron alpha pegylé associé de la ribavine. La durée du traitement et son efficacité varient en fonction du génotype viral.

⁵⁷Dr. Nabil B. 2008.

⁵⁸EASL Clinical practice guidelines, 2011.

Chez les patients infectés par les génotypes 2 et 3, 24 semaines de traitement sont nécessaires pour obtenir une RVS chez plus de 75% des patients. Une étude récente montre un taux de RVS meilleur pour le génotype 2 en comparaison au génotype 3.⁵⁹

Le génotype 1, plus difficile à traiter, nécessite quant à lui 48 semaines de traitement et une RVS est obtenue chez environ 40% à 50% des patients seulement.^{60,61}

La réponse aux traitements est influencé par de nombreux facteurs liés au patient, comme le sexe, l'indice de masse corporelle, la résistance à l'insuline, le degré de fibrose, la coïnfection par le VIH ou d'autres virus hépatotropes. Des facteurs liés au virus tels que le génotype viral et la charge virale en début de traitement influencent également cette réponse.

Plus récemment d'autres facteurs prédictifs apportant une aide à la décision thérapeutique ont été identifiés.⁶²

IV.2.A -Armes thérapeutiques

- ❖ -Interféron: standard ou pegylé.
- ❖ -Ribavirine.

- **Interféron:** est considéré comme puissant médiateur cellulaire (cytokine) impliqué dans des activités antivirale, immunomodulatrice et antiprolifératives.
 - **Ribavirine:** analogue de la guanosine (a viramidine dernièrement utilisée, montre une diminution des effets secondaires "aménie" mais une efficacité moindre).
 - **Autre:** anti-protéases en cours d'évaluation.

IV.2.B -Surveillance de l'efficacité du traitement:

- Biologique: ALAT
- Virologique: charge virale
- Histologique: ponction biopsie hépatique (PBH)

IV.2.C -Surveillance de la tolérance au traitement:

- Neutropénie (Interférons)
- Anémie (Ribavirine)⁶³

⁵⁹Awad T, Thorlund K, Hauser G, Stimac D, Mabrouk M, Gluud C.2010.

⁶⁰Fried MW, Shiffman. ML, Reddy KR, Smith C, Marinos G, Goncalves FIT et al, 2002.

⁶¹Manns MP, Wedemeyer H, Corn berg M-2006.

⁶²Poordad FF. 2010.

⁶³Dr. Nabil B. 2008.

Démarche diagnostic et thérapeutique :

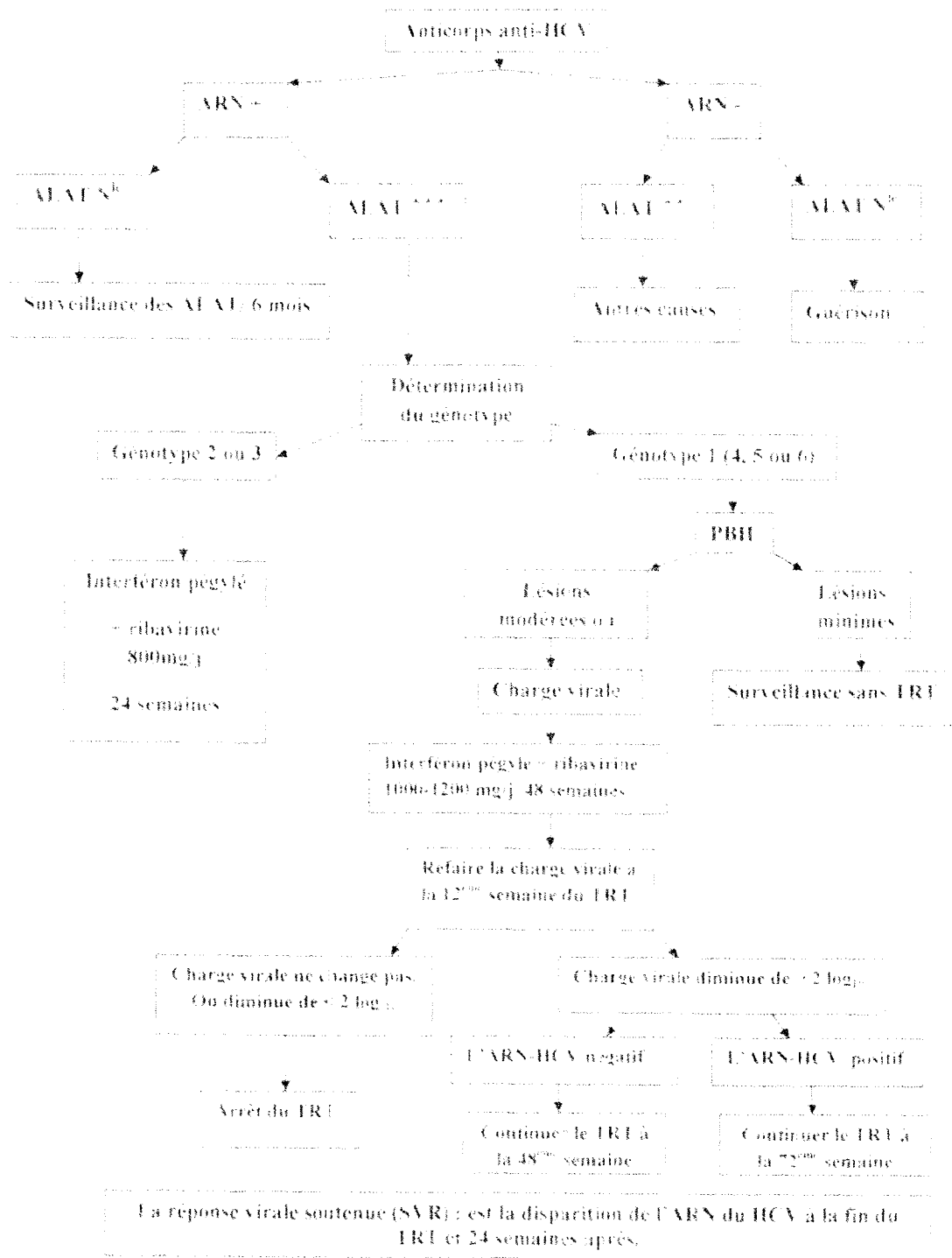


Figure 5.10 Démarche diagnostique et thérapeutique

IV.3 La prévention de l'hépatite C:

- ✓ Pas de perspective proche de disponibilité d'un vaccin préventif.
- ✓ Utilisation de matériel à usage unique chez les toxicomanes IV tout le long de la chaîne de préparation et d'injection du matériel.
- ✓ Respect des règles d'hygiène et de sécurité élémentaires lors de toute procédure médicochirurgicale invasive et lors des gestes impliquant un risque de contact sang-sang (acupuncture, tatouages, piercing, rasage...) ⁶⁴

La prévention de l'hépatite liée au virus de Hépatite C (HCV) vise à éviter la survenue de nouvelles infections par le contrôle de la transmission de ces virus dans les populations exposées. Chez les usagers de drogues, la prévention de l'hépatite C repose principalement sur la politique de réduction des risques de transmission (accès aux seringues, traitements de substitution aux opiacés).

La mise en place des mesures de prévention concernant la sécurité transfusionnelle, la prise en charge des patients en milieu de soins, les professionnels de santé, les personnes exposées au risque sexuel et la population placée sous-jugement de justice.

La sécurité infectieuse transfusionnelle s'appuie sur la sélection des donneurs de sang et d'organes et sur le dépistage des dons de sang.

Le contrôle de la transmission virale liée aux dons de sang et d'organes passe par le dépistage systématique des agents pathogènes transmissibles par le sang, mis en place rapidement après l'élaboration des tests de détection.

Le dépistage des infections virales chez les soignants et la surveillance des accidents exposant au sang. ⁶⁵

IV.4 perspective :

En dépit des progrès importants des recherches sur l'hépatite C au cours des dix dernières années, de nombreuses questions restent posées qui concernent aussi bien la compréhension de la pathogénie de la maladie que la prise en charge de l'hépatite C.

Le premier problème est de mieux connaître l'histoire naturelle de l'infection par le VHC et de préciser les facteurs pronostiques. Pour cela, des études comprenant de larges cohortes sont nécessaires. Idéalement, des procédés moins invasifs que la biopsie hépatique, comme les marqueurs sanguins de fibrose, devraient être développés afin d'apprécier la sévérité de l'atteinte hépatique. L'influence des facteurs tels que l'âge, le sexe et l'alcool doivent être mieux compris et d'autres facteurs potentiels importants, encore inconnus, restent à déterminer. L'un des problèmes les plus urgents est de comprendre les mécanismes favorisant la fibrogenèse et la carcinogenèse associées à l'hépatite chronique C. ⁶⁶

⁶⁴Dr Dominique Bettinger 2004.

⁶⁵Pr Daniel D. 2014.

⁶⁶Dr Dominique Bettinger 2004

Le second problème est d'améliorer l'efficacité des traitements. Bien que l'association de la RBV à l'IFN-PEG soit sans aucun doute un progrès important, les résultats restent insatisfaisants avec environ 45 % de patients non répondeurs. Il est probable qu'une meilleure utilisation des drogues disponibles actuellement ne permettra pas d'obtenir des résultats nettement supérieurs. Le développement de nouvelles molécules s'avère donc nécessaire, comme les inhibiteurs des enzymes virales (protéases, hélicases et polymérase). Les résolutions récentes des structures tridimensionnelles des protéase et hélicases virales représentent une avancée importante car elles permettent de développer des inhibiteurs spécifiques de ces enzymes.

Des études (actuellement en stade préliminaire) sont en cours concernant des anti-protéases. Une approche thérapeutique innovante repose sur l'utilisation d'oligonucléotides antisens, conçus pour s'hybrider spécifiquement aux ARN viraux et ainsi inhiber la réplication du VHC. Une autre approche moléculaire est l'utilisation des ribozymes (ARN ayant une activité enzymatique).

Les cytokines et les modulateurs des cytokines méritent aussi d'être évalués. Parmi eux, l'IL12 a des propriétés immuno-modulatrices intéressantes : elle induit la différenciation des cellules CD4 en cellules effectrices Th1 et augmente la réponse immune Th1 induite par les antigènes. Cette cytokine est actuellement en cours d'évaluation clinique. L'IL10, qui a des effets anti-inflammatoires, anti-fibrosants et auto-immuns, pourrait également être intéressante.

Finalement, le principal défi est le développement de vaccins, qui se heurtent à plusieurs problèmes scientifiques et pratiques majeurs :

- la très grande variabilité des protéines virales ;
- l'absence, en dehors du chimpanzé, de modèle animal d'infection par le VHC ;
- l'absence de système de réplication efficace in vitro.

Le développement de modèles animaux et de culture in vitro représente actuellement un enjeu majeur. Un nouveau modèle animal (*Tupaia belangeri*) a été proposé récemment.

Par ailleurs, des modèles de réplication « réplicon » permettraient l'étude de molécules antivirales et le développement de vaccins.

Il a été observé, chez le chimpanzé, que des protéines d'enveloppe recombinantes peuvent entraîner une réponse anticorps et une réponse des cellules T-CD4.

Mais les candidats pour les vaccins protecteurs semblent être encore lointains et il semble qu'à court terme, la mise au point de vaccins thérapeutiques paraît plus réaliste.⁶⁷

⁶⁷ Pr Daniel D. 2014

Partie 2 :

Partie pratique

Chapitre V : matériel et méthode :

V.1 - période , lieu et type de l'étude :

notre enquête est une étude rétrospective réalisée sur une période de 4 ans , de janvier 2012 à décembre 2016 qui a été menée au laboratoire d'EHS (service de psychiatrie) de l'hôpital de frantz fanon à blida

V.2 - critère d'inclusions :

notre étude a intéressé 1550 personnes qui se sont fait cécipistées pour la première fois pour une infection éventuelle par le VHC , on été inclus dans cette enquête des patients des deux sexes (les hommes et les femmes) quelque soit l'age .

V.3 problèmes et difficultés de recherche :

Parmi les difficultés que nous avons rencontrés au cours de cette enquête :

en 2012 laboratoire de l'EHS de psychiatrie n'est pas fonctionné

les prélèvements non conformes en nombre de 18 (sang hémolysé) qui n'ont pu être traités au niveau du laboratoire de psychiatrie pendant les années 2013 et 2015 et 2016

le manque du réactif durant les périodes:

- du 07/01/14 jusqu' au 17/03/14
- du 01/01/2016 jusqu'au 18/01/2016
- du 30/06/2016 jusqu'au 31/12/2016 au niveau du laboratoire de psychiatrie .

V.4 - présentation des outils de recherche :

on à choisi d'utiliser comme outils d'enquête l'étude statistique sur l'hépatite virale C durant les années du 1er janvier 2012 au juin 2016 (étude rétrospective) , au niveau de laboratoire de l'EHS de psychiatrie qui prend en charge principalement les toxicomanes .

Les patients inclus dans cette étude statistique ont été hospitalisés dans les services: toxicomanie hommes et femmes et les 12 autres services : (ASLAH, FEKIR, IBN EL KHATIB , IBN EL DJAZAR, BEN MAHDIA , ALI BEN ABBES, ALAMI RATIBA, BEN BADDIS, Abd El Nabi, Ibn Sina , Maizi ,EL Rasi ,) : et les patients externes qui viennent après une consultation d'hépatogastroentérologie .

V.5 -Matériel utilises

V.5.A-Appareillages et instruments:

-Centrifugeuse pour tubes à hémolyse.

-Pipetes automatiques ou semi-automatiques réglables ou fixes pouvant distribuer 20microL , 80microL, 100 microL, 200 microL .

- Epruvettes graduées de 10 ml, 200 ml et 1000 ml.
- Agitateur type vortex
- Bain-marie , ou incubateur sec, pouvant être thermostaté à $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ou $40^{\circ} \pm 1^{\circ}$
- un Système de lavage, (automatique semi-automatique ou manuel pour microplaque).
- Appareil de lecture pour microplaques (équipés de filtres 450 /620-700 nm).
- Minuteur.
- Portion de tubes.
- Lunettes de protections.

V.5.B-Produits et consommables:

- ✓ Eau distillée ou complètement déminéralisée.
- ✓ Eau de Javel et bicarbonate de soude.
- ✓ Papier absorbant.
- ✓ Gants à usage unique.
- ✓ Tubes à usage unique.
- ✓ Conteneur de déchets contaminés.

V.5.C-Composition de la trousse MonolisaTM :(voire annexe 4).

V.6 - Le prélèvement :

Le prélèvement au est réaliser sur une prise de sang au pli du coude dans laboratoire de psychiatre ; les prélèvements sont effectués au niveau des services du l'EHS puis acheminés par les infirmiers, hormis les patients exterênes(non hospitalisés) viennent au laboratoire pour ces deniers.

V.7 -Principes des dosages immun enzymatiques

Les dosages immunenzymatiques sont relativement récents. Engvall et Van Weeman réalisent les premiers test d'ELISA en 1971 .il s'agit d'un dosage dans lequel un des réactifs(l' Ag ou l'Ac doser) est immobilisé (adsorbé) sur un support plastique La révélation de la réaction Ag-Ac est possible grâce au marquage du réactif libre (Ac ou Ag) par une enzyme(une enzyme fixé de façon covalente l'Ag ou l'Ac libre, on dit que l'Ag ou l'Ac libre est conjugué une enzyme). L'activité de cette enzyme conjuguée est mise en évidence par des substrats chromogènes ou par fluorométrie ou par chimiluminescence.

Plusieurs modalités de dosage sont possibles, soit par compétition, soit par révélation directe ou indirecte (technique sandwich). ils peuvent servir à doser aussi bien Ag que des Ac. De nombreux montages sont ainsi possibles.⁶⁸

V.7.A -Dosage d'Ac par ELISA direct:

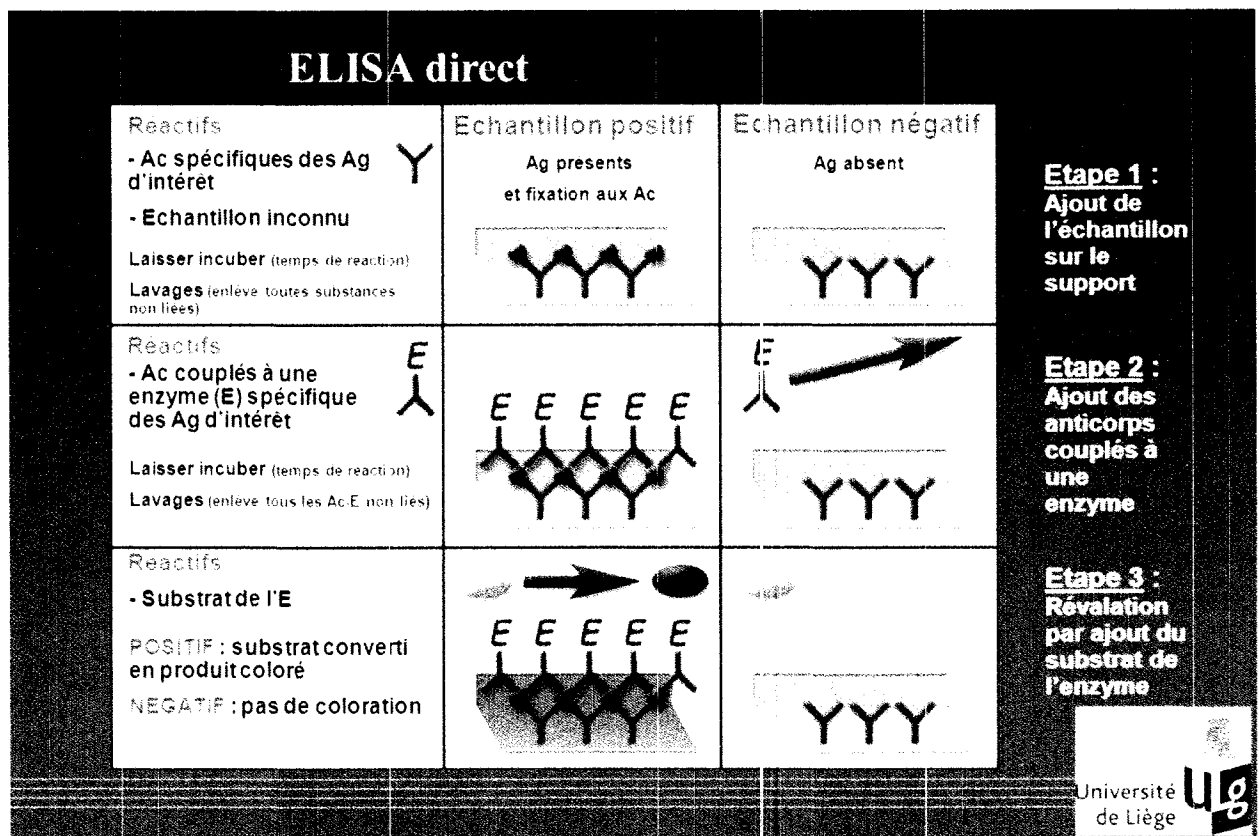


Figure 10:Schéma représentant la technique ELISA direct⁶⁸

⁶⁸ Universités des sciences de la santé, 2009

V.7.B-Dosage d'Ac par ELISA indirect:

Dans ce procédé, les AC dosé réagissent dans un premier temps avec l'Ag immobilisé.

Dans un deuxième temps, la quantité d'AC fixés sur l'Ag en excès est mesurée l'aide d'un N deuxième AC (anti-immunoglobuline) conjugué une enzyme. L'activité enzymatique est élevée quand il y a beaucoup d'AC marques fixes, dont beaucoup d'AC ayant réagi dans le premier temps. L'activité enzymatique est proportionnelle la quantité d'AC a doser. Cette technique permet de caractériser la classe d'AC à doser en utilisant en deuxième AC un anti- μ , - γ - α)⁷⁰

ELISA

- Dosage des anticorps:
 - Indirecte avec Ag marqué

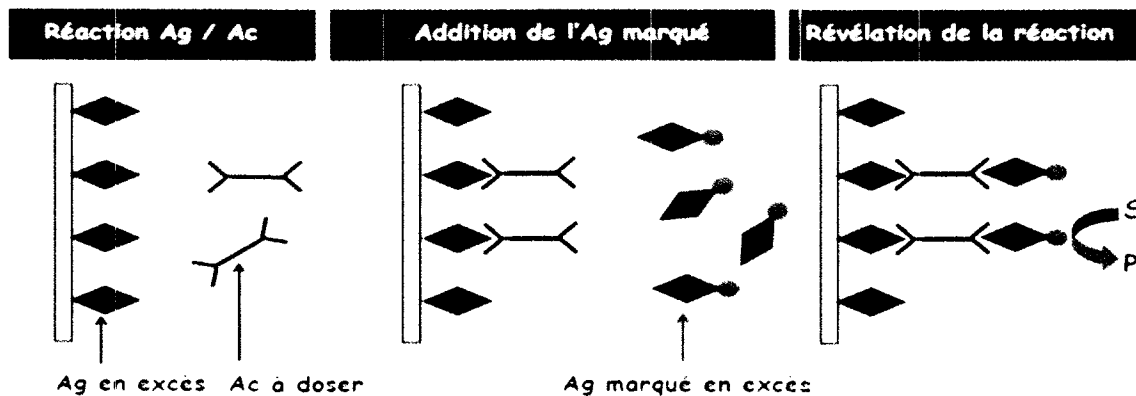


Figure 11: Schéma représentant la technique ELISA indirecte.

⁶⁹ virologie vétérinaire 3 BACVT /E Thiry

⁷⁰ Universités des sciences de la santé, 2009

V.7.C -Technique sandwich

Un Ac spécifique d'un Ag est immobilisé sur un support (l'incubation, souvent en tampon alcalin, de l'Ac dans les puits en polystyrène, suffit en général). Dans un premier temps, l'Ag à doser est capté par l'Ac spécifique immobilisé sur le support. Dans un deuxième temps, la quantité d'AC complexé à l'Ag est mesurée après sa réaction avec un AC rajouté dans le milieu réactionnel, de même spécificité et couplé une enzyme (ou AC conjugué).

Pour ce dosage, il est nécessaire que l'Ag possède plusieurs épitopes (identiques répétés ou non identiques) de façon qu'après sa réaction avec l'AC immobilisé, il puisse encore réagir avec le deuxième Ac spécifique couplé l'enzyme. L'activité en responsable d'une réaction colorée quantifiable dans un spectrophotomètre est proportionnelle à la quantité d'Ag fixé par le premier Ac. La concentration d'Ag est proportionnelle au signal.

Le dosage de type sandwich est le p qui donne les résultats les plus satisfaisants, aussi bien du point de vue de la sensibilité que de la reproductibilité .(Universités des sciences de la santé, 2009)

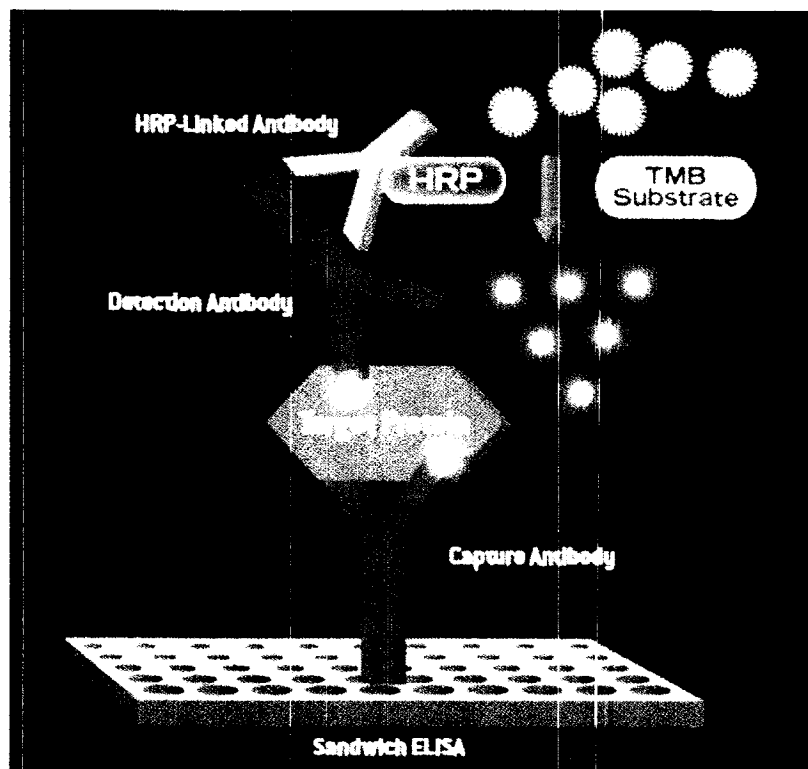


Figure 12: Schéma représentant la technique ELISA sandwich

V.7.D-Technique de compétition:

Dosage d'Ac par compétition avec un Ac marqué

L'Ac à doser est mélangé avec des quantités déterminées d'Ac marqué l'enzyme, dans des conditions telles qu'il y ait compétition entre l'Ac doser et l'Ac marqué pour un nombre limité de sites d'Ag immobilisés sur la phase solide. Quand il n'a pas d'Ac à doser, l'activité enzymatique est la plus élevée, mais plus la quantité d'AC est grande, moins d'AC marqué se combine à l'Ag immobilisé et moins l'activité enzymatique est élevée. L'activité enzymatique est inversement proportionnelle à la quantité d'Ac à doser. Cette technique ne permet pas la détermination des classes d'AC doser.⁷¹

Competitive ELISA

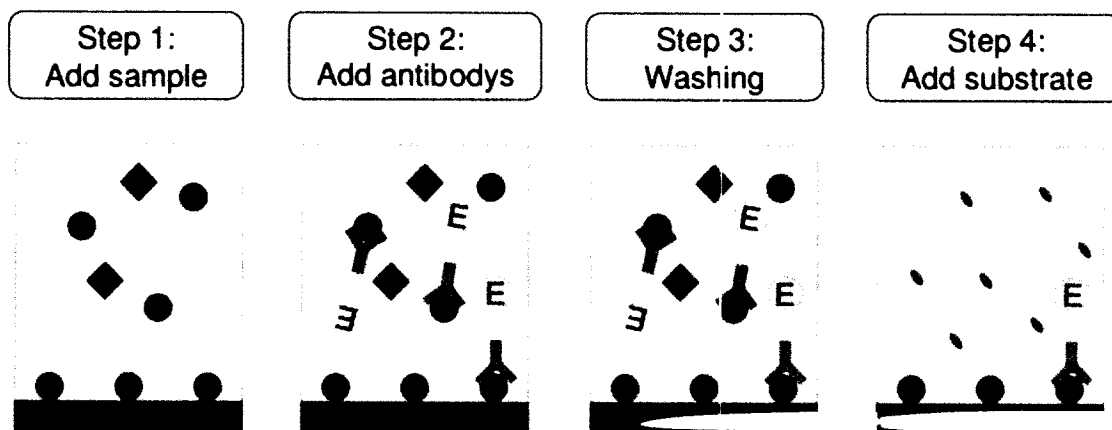


Figure 13: Schéma représentant la technique ELISA compétition

⁷¹ Universités des sciences de la santé, 2009.

-Mise au point de la technique utilisée dans le diagnostic de l'hépatite C:

Monolisa™ Anti-HCV PLUS Version 2 est une technique immun enzymatique de type **indirect** permettant le dépistage des anticorps associés à une infection par le virus de l'hépatite C dans le sérum ou le plasma humain.

V.8 -Methodologie :

V.8.A -Principe du test:

Monolisa™ Anti-HCV PLUS Version 2 repose sur l'utilisation d'une phase solide préparée avec des antigènes purifiés: trois protéines recombinantes produites par E.coli à partir de clones sélectionnés dans la région non structurale (NS3 et NS4) et dans la région structurale du génome du virus de l'Hépatite C et d'une phase liquide (conjugué) constituée d'anticorps de chèvre anti-IgG humaines purifiés par chromatographie d'affinité et couples la peroxydase

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

1) Les échantillons à étudier ainsi que les sérums de contrôle sont distribués dans les cupules Si des anticorps anti-HIV sont présents, ils se lient aux antigènes fixes sur la phase solide.

2) Les anticorps anti-IgG humaines marqués à la peroxydase sont ajoutés après lavage. Ils se fixent leur tour aux anticorps spécifiques retenus sur la phase solide.

3) Après élimination du conjugué enzymatique non lié, le contact antigène-anticorps est

révélé par addition du substrat

4) Après arrêt de la réaction, la lecture s'effectue au spectrophotomètre à 450/620-700 nm L'absorbance mesurée pour un échantillon permet de conclure quant à la présence ou l'absence d'anticorps anti-HCV.

L'intensité de la coloration est proportionnelle la quantité d'anticorps anti-H liés sur la phase solide

V.8.B-Conditions de conservation des échantillons de sérum ou de Plasma :

- Les tests sont effectués sur des échantillons non dilués de sérum ou de plasma.
- Les échantillons seront conservés à + 2 à 8°C si le dépistage est effectué dans les 7 jours où peuvent être conservés congelés à - 20°C
- Si les échantillons doivent voyager, les emballer selon les réglementations en usage pour le transport des agents étiologiques et les transporter préférablement congelés.

V.8.C-Reconstitution de la réactifs validité-conservation :

Avant l'utilisation des réactifs de la trousse Monolisa™ Anti-HCV plus version 2, les laisser équilibrer à température ambiante pendant 30 minutes.

1) Réactifs prêts à l'emploi:

a) Microplaque Ag HCV (R1)

Chaque support cadre contenant 12 barrettes et conditionné en sachet aluminium scellé.

Couper le sachet à l'aide de ciseaux ou scalpel 0,5 à 1 cm au-dessus de la soudure. Ouvrir le sachet et sortir le cadre. Replacer dans le sachet les barrettes inutilisées. Renfermer le sachet soigneusement et le replacer à + 2-8°C

b) Diluant pour échantillon prêt à l'emploi (R6)

Homogénéiser par retournement avant utilisation.

c) conjugué prêt à l'emploi (R7)

Homogénéiser par retournement avant utilisation.

2) Réactifs à reconstituer:

a) solution de lavage concentrée R2 (20X)

Diluer 20 fois la solution dans l'eau distillée on obtient ainsi la solution de lavage prête à l'emploi. Prévoir 800 ml pour une plaque de 12 barrettes.

b) solution de révélation enzymatique (R8 + R9)

Diluer le réactif R9 dans le réactif R8 au 1/11e (exemple: 1 ml de réactif R9 dans 10 ml de réactif R8) sachant que 10 ml sont nécessaires et suffisants pour traiter 12 barrettes
Homogénéiser.

3) Validité

La trousse doit être gardé a plus de à +2-8°C. Chaque élément de la trousse conserver à +2-8°C peut-être utilisé jusqu'à la date de prévention indiqué sur le coffret (sauf indication spécifique).

R1 : Après ouverture de sachet sous vide, les barrettes conservées à +2-8°C dans leur sachet d'origine, refermer avec soin, sont stables pendant 1 mois.

R2 : La solution de lavage de lit peut-être conserver à +2-30°C pendant 2 semaines. La solution de lavage concentré (R2) peut-être conservée à +2-30°C.

R8+R9 : Après reconstitution, les réactifs conservés à l'obscurité sont utilisables pendant 6h à la température ambiante (18-30°C).

V.8.D- mode opératoire :

- suivre strictement le Protocole proposé.
- utiliser le sérum de contrôle négatif et positif à chaque mise en œuvre du test pour valider la qualité de test.
- Appliquer les bonnes pratiques de laboratoire

Deux méthode de détection des anticorps anti-HCV sont possibles:

	Procédure 1	Procédue 2
Incubation des échantillons	37 ± 1°C	40± 1°C
	60 ± 5 min Bain-marie/ incubateur sec	
Incubation du conjugué	37± 1°C	40± 1°C
	30± 5 min Bain-marie/ incubateur sec	
Révélation enzymatique	Température ambiante (18-30°C°) 30± 5min (à l'obscurité)	

Tableau 2:Mode opératoire du test ELISA

- 1) Etablir soigneusement le plan de distribution et d'identification des échantillons.
- 2) Préparer la solution de lavage diluée.
- 3) Sortir le cadre support et les barrettes (R1) l'emballage protecteur .
- 4) Déposer directement, son préleva l'âge de la plaque, successivement:
 - 4.1) 80µl de diluant (R6) dans chaque cupule

N.B : Après ajout du diluant violet , il est possible de vérifier par lectures (s) spectrophotométrique (s) à 620 nm

4.2) 20 µl de sérum de contrôle négatif (R3) en A1, B1

20 µl de sérum de contrôle positif (R4) en C1, D1, E1

20 µL de premier échantillons en F1 si cette cupule n'est pas utilisée comme cupule témoin diluant pour la validation de dépôt des échantillons

20 µl du deuxième échantillon en G1, etc...

En fonction du système utilisé il est possible de modifier la position où l'ordre de distribution des contrôles.

homogénéiser le mélange par 3 aspirations minimum avec une pipette de 20 μ l. Il est également possible de déposer 100 μ l d'un échantillon préalablement dilué au 1/5e.

Si la distribution des échantillons excède 10 mn, il est alors recommandé de distribuer les contrôles négatifs et positifs après les échantillons à tester.

N.B: Après ajout de l'échantillon le diluant vire de violet ou bleu. Il est possible de vérifier par lecture spectrophotométrique à 620 nm la présence des échantillons dans les cupules .

5) Couvrir d'un film autocollant en appuyant bien sur toute la surface pour assurer l'étanchéité.

6) Incuber la microplaque la microplaque au bain-marie thermostaté ou dans un incubateur sec de microplaque pendant :

- procédure un : 60 ± 5 minutes à $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.
- procédure 2 : 60 ± 5 minutes à $40^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

7) Retirer le film adhésif, Aspirer le contenu de toutes les cupules dans un conteneur pour déchets contaminés (contenant de l'hypochlorite de sodium) et ajouter dans chacune d'elles un minimum de 0,370 ml de solution de lavage. Aspirer de nouveaux. Répéter le lavage 2 fois (un minimum de 3 lavages). Le volume résiduel doit être inférieur à 10 μ l (si nécessaires, sécher la plaques par retournement sur une feuille de papier absorbant).

Si l'on dispose d'un laverie automatique, respecter le même cycle opératoire.

8) Distribuer rapidement 100 μ l de la solution de conjuguer dans toute les copules. Le conjugue doit être agité avant emploi. Recouvrir d'un film neuf et incuber pendant:

- procédure 1 : 30 ± 5 minutes à $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$
- procédure 2 : 30 ± 5 minutes à $40^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

N.B : le conjugué une coloration verte. Il est possible de vérifier par lecture (s) spectrophotométrique à 620 nm la présence du conjugué dans les copules.

9) Retirer le film adhésif, vider toute les copules par aspiration et laver 4 fois comme précédemment (Si nécessaire sécher les barrettes retournement sur une feuille de papier absorbant).

10) Préparer la solution de révélation (réactif R8 + R9).

V.8.E -Calcul et interprétation des résultats

La présence ou l'absence des anticorps anti-HCV est déterminée en comparant pour chaque échantillon l'absorbance enregistrée celle de la valeur seuil calculée

V.8-5.A -Calculer la moyenne des absorbances mesurées pour le sérum positif (DO R4)

✓ **Exemple:** Contrôle positif R4

✓ **Echantillon Densité optique**

C1 1.636

D1 1,704

E1 1,650

Total 4.9903.

$$\text{Moyenne DO R4} = \frac{\text{Densité Optique Total}}{3} = \frac{4,990}{3} = 1,663$$

V.8-5.B -calcul de la valeur seuil (Vs)

$$V_s = \frac{\text{Moyenne DO R4}}{5}$$

Exemple: Moyenne DO R4 = 1,663

$$V_s = \frac{1,663}{5} = 0,332$$

V.8-5.C -Les critères de validation sont les suivants:

a) **Pour le contrôle négatif :** chaque valeur individuelle de l'absorbance mesurée doit être inférieure 0,150.

b) **Pour le contrôle positif :** la moyenne des absorbances mesurées doit être supérieure ou égale à 1,000 et inférieure ou égale 2,400.

Si l'une des valeurs individuelles du contrôle positifs s'écarte de plus de 30% de la moyenne, refaire le calcul avec les deux valeurs de contrôler positif restantes.

Le test est recommencer si le contrôle négatif et/ou plus d'une valeur du contrôle positif sont hors de l'intervalle des valeurs ci-dessus

V.8.F Interprétation des résultats

Les échantillons dont la densité est inférieure la valeur seuil sont considérés négatifs d'après le test Monolisa™ Anti-HCV PLUS Version 2.

Toutefois, les résultats situés juste au dessous de la valeur seuil ($VS-10 \% < DO < VS$) doivent être interprétés avec prudence et il est conseillé de tester de nouveau les échantillons correspondant en double lorsque les systèmes utilisés et les procédures du laboratoire le permettent.

Les échantillons dont la densité optique est inférieure ou égale au seuil sont considérés comme initialement positifs et doivent être retestés en double avant l'interprétation finale. Après répétition de l'essai, l'échantillon est considéré positif d'après le test Monolisa™ Anti- HCV PLUS Version 2 si la deuxième et ou la troisième mesure est (sont) positive(s), c'est-à-dire supérieure ou égale à la valeur seuil. L'échantillon est considéré négatif si ces deux valeurs sont trouvées inférieures la valeur seuil.

NB: L'interprétation des résultats en vue d'une prise en charge clinique.

Chapitre VI : - la prévalence de l'hépatite C

VI.1 RESULTATS (Représentation graphique des statistiques):

VI.1.A la prévalence de l'hépatite C :(du 1er janvier 2013 au 31 décembre 2014)

Au niveau de laboratoire de psychiatrie , sur 714 patientés du 1er janvier 2013 au 31 décembre 2014, 44 prélèvements sont revenus positifs pour l'hépatite C , il se répartissent sur les deux années comme nous le montre le tableau suivant :

Années	Nombre total des tests	Echantillons HCV positifs	Pourcentage
2013	306	16	5,22%
2014	408	28	6,86%
Total	714	44	6,16%

Tableau 3:Représentation des cas séropositifs en HCV durant les années 2013-2014

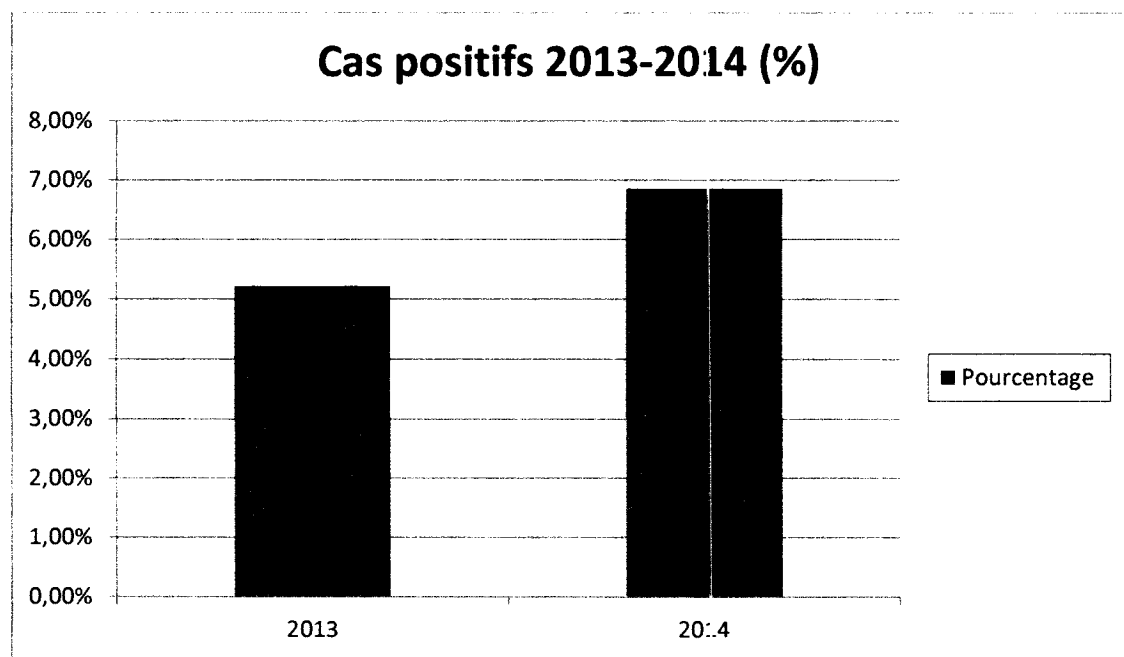


Figure 14: pourcentage de cas HCV séropositifs par rapport au nombre total des tests effectués durant la période janvier 2013-décembre 2014

Discussion :

-Ce tableau représente 306 cas dépistés pendant l'an 2013 dont 16 cas sont séropositifs(5,22%),et 408 cas dépistés pendant l'an 2014 dont 24 cas séropositifs(6,86%).

-Selon le tableau nous notons que le nombre de cas HVC séropositif a augmenté durant l'année 2014.

VI.1-1.A prévalence sexe :

	Sexe masculin	Sexe féminin
Nombre total de patients	384	330
Nombre de cas positifs en HCV	37	7
Pourcentages	9,63%	2,12%

Tableau 4:Répartition des cas séropositifs en HCV selon le sexe

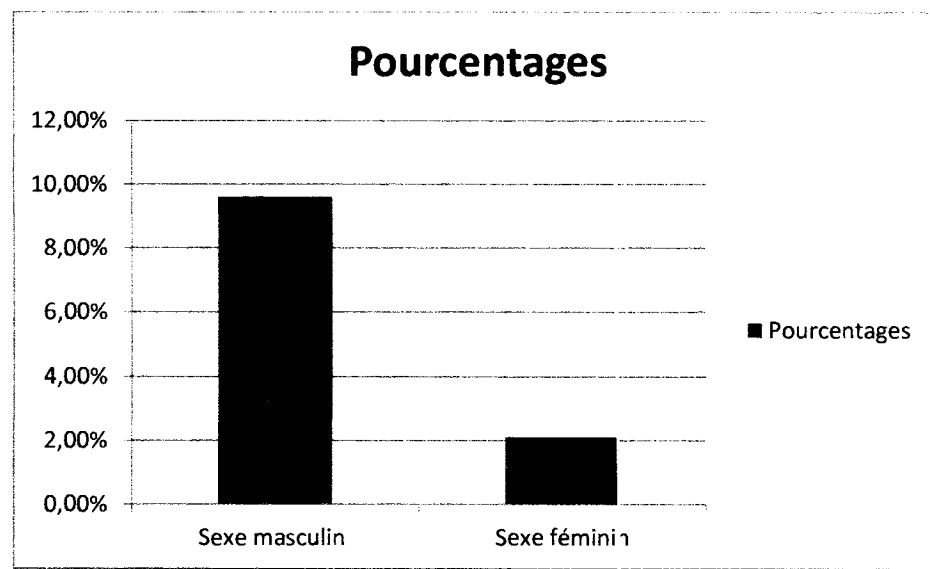


Figure 15:Représentation des résultats du sexe séropositif

Discussion :

Nous constatons que la majorité des cas HCV séropositifs sont de sexe masculin avec un taux 9,63%

et que 2,12% sont du sexe féminin .

VI.1-1.B prévalence selon service:

	Toxi co Man e	ali ben Abb es	Ibn el Djazz ar	Ben Mahd ia	Ben Bad dis	Ibn el Khat ib	Feki r	Assl ah	Alla mi	Exter ne
Nombre total de patients	181	87	26	45	19	76	52	31	83	114
Nombre total de séropositi fs en HCV	21	6	1	3	1	3	2	1	2	4
Pourcenta ges	11.60 %	6.90 %	3.85%	6.66 %	5.26 %	3.94 %	3.85 %	3.22 %	2.40 %	3.50%

Tableau 5:Représentation des cas séropositifs en HCV Selon les échantillons provenant des services

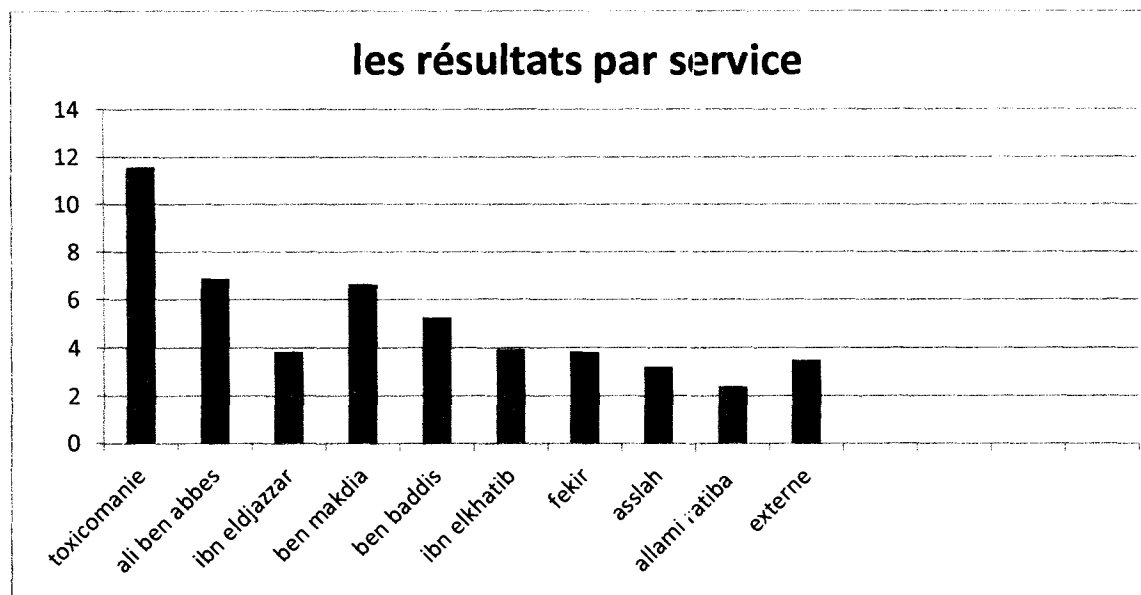


Figure 16:Représentation des résultats par service

Discussion :

Selon les statistiques nous avons constaté que le pourcentage de l'hépatite virale C est plus important chez les toxicomanes chez lesquels nous avons suspecté une hépatite virale par rapport aux autres patients .

parmi les 181 échantillons provenant de toxicomanes 21 sont revenus HCV positifs avec un taux de 11,60%.

VI.1.B la prévalence de l'hépatite C : (du 1er janvier 2015 au 31 décembre 2015)

Au niveau de laboratoire de psychiatrie , sur 441 patientés du 1er janvier 2015 au 31 décembre 2016, 02 prélèvements sont revenus positifs pour l'hépatite C , il se répartissent comme nous le montre le tableau suivant :

Années	Nombre total des tests	Echantillons HCV positifs	Pourcentage
2015	441	02	0,45%

Tableau 6:Représentation des cas séropositifs en HCV durant les années 2013-2014

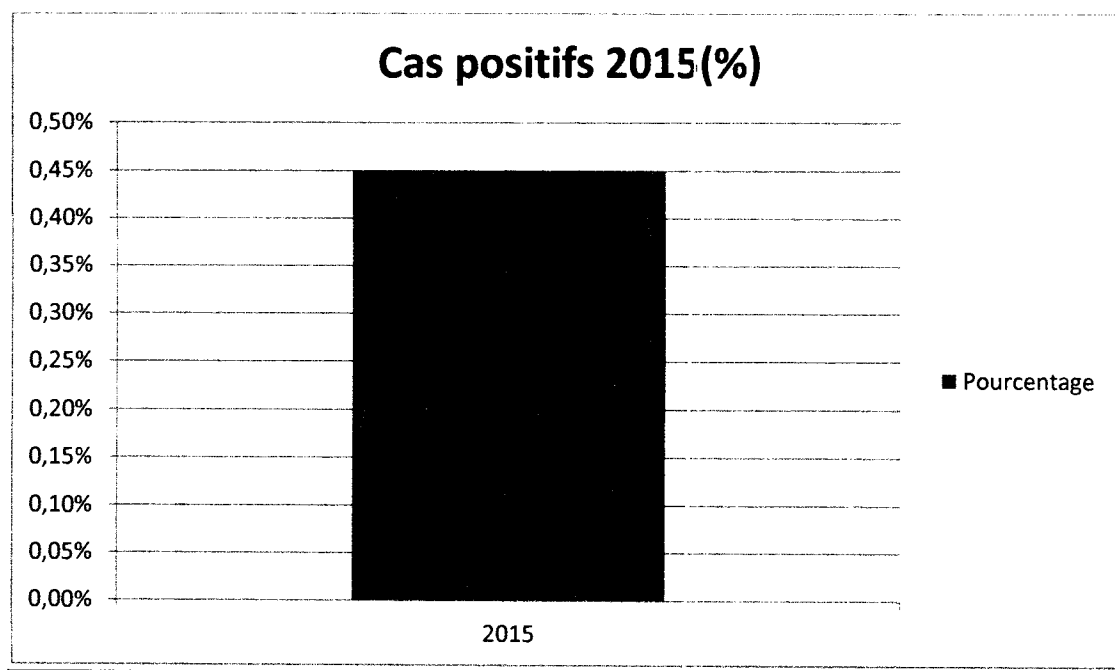


Figure 17: pourcentage de cas HCV séropositifs par rapport au nombre total des tests effectués durant la période janvier 2015-décembre 2015

Discussion :

-Ce tableau représente 441 cas dépistés pendant l'an 2015 dont 02 cas sont séropositifs(0,45%).

VI.1-2.A prévalence sexe :

	Sexe masculin	Sexe féminin
Nombre total de patients	352	89
Nombre de cas positifs en HCV	02	00
Pourcentages	0,56%	0%

Tableau 7: Répartition des cas séropositifs en HCV selon le sexe

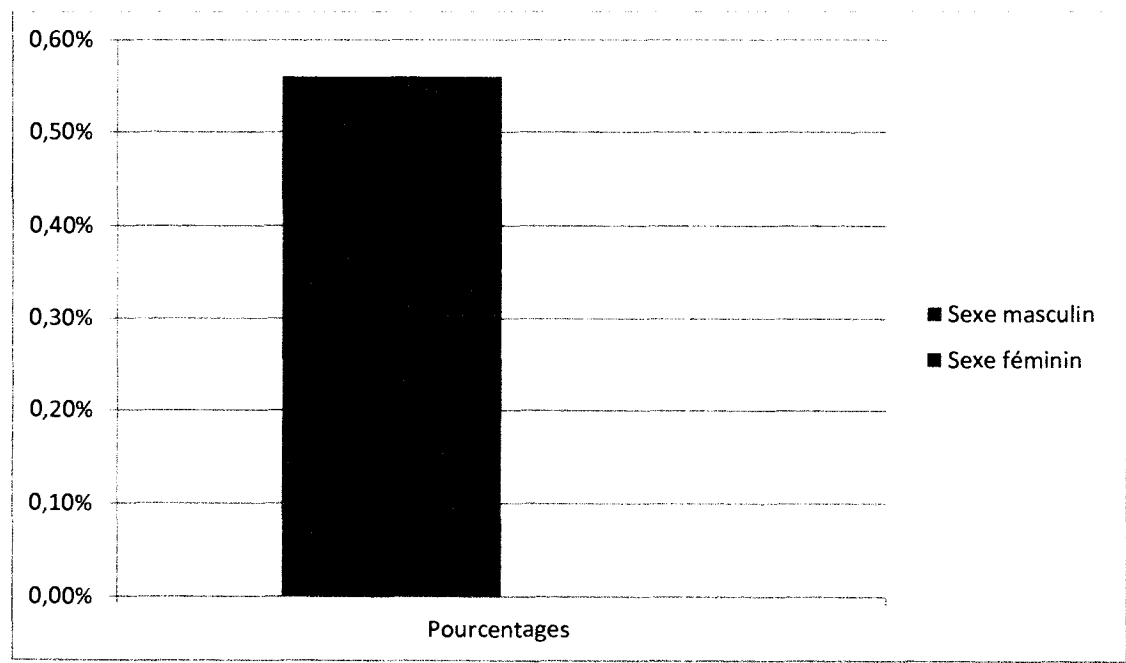


Figure 18: Représentation des résultats du sexe séropositif

Discussion :

Nous constatons que tous les cas HCV séropositifs sont de sexe masculin avec un taux 0,56%.

VI.1-2.B prévalence selon service:

	Toxi co man e	ali ben Abb es	Ibn el Djazz ar	Ben Mahd ia	Ben Badd is	Ibn el Khat ib	Fek ir	Assl ah	Alla mi	Exter ne
Nombre total de patients	119	46	12	19	11	52	31	23	30	98
Nombre total de séropositif s en HCV	00	00	00	00	00	02	00	00	00	00
Pourcenta ges	00%	00%	00%	00%	00%	3.84 %	00 %	00%	00%	00%

Tableau 8:Représentation des cas séropositifs en HCV Selon les échantillons provenant des services

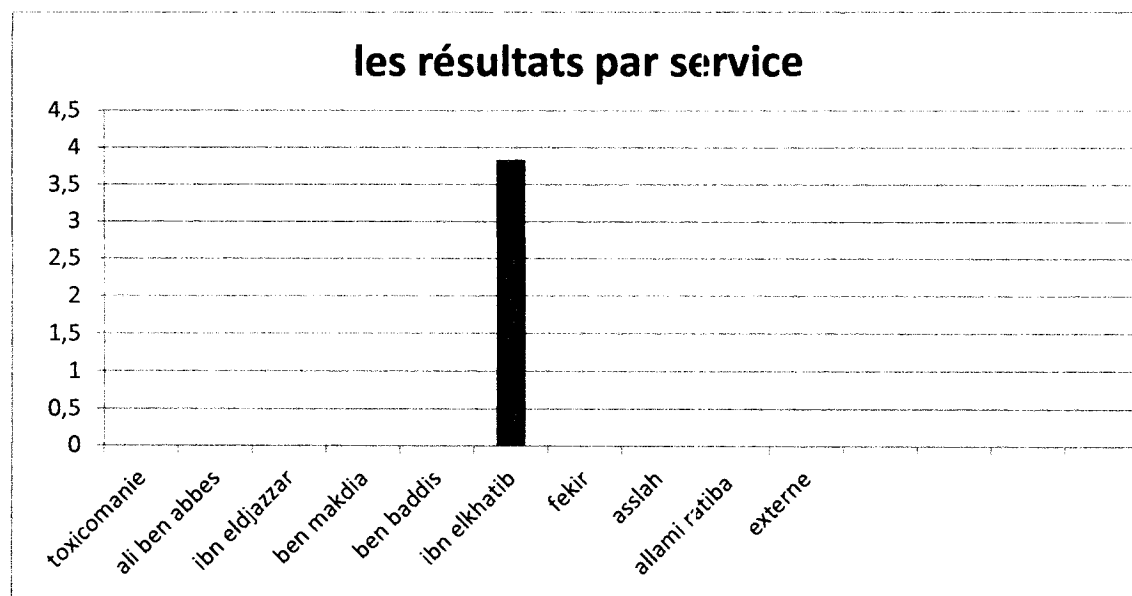


Figure 19:Représentation des résultats par service

Discussion :

Selon les statistiques nous avons constaté que le pourcentage de l'hépatite virale C est plus important chez les toxicomanes chez lesquels nous avons suspecté une hépatite virale par rapport aux autres patients

parmi les 52 échantillons provenant de service Ibn Khatib 02 sont revenus HCV positifs avec un taux de 3,84%.

VI.1.C *la prévalence de l'hépatite C :(Du 01 janvier 2016 au 30 juin 2016):*

Au niveau de laboratoire de psychiatrie , sur 395 patientés du 1er janvier 2016 au 30 juin 2016, 06 prélèvements sont revenus positifs pour l'hépatite C , comme nous le montre le tableau suivant :

Années	Nombre total des tests	Echantillons HCV positifs	Pourcentage
Du 01 janvier 2016 au 30 juin 2016	395	06	1,51%

Tableau 9:Représentation des cas séropositifs en HCV durant la période janvier 2016 au juin 2016

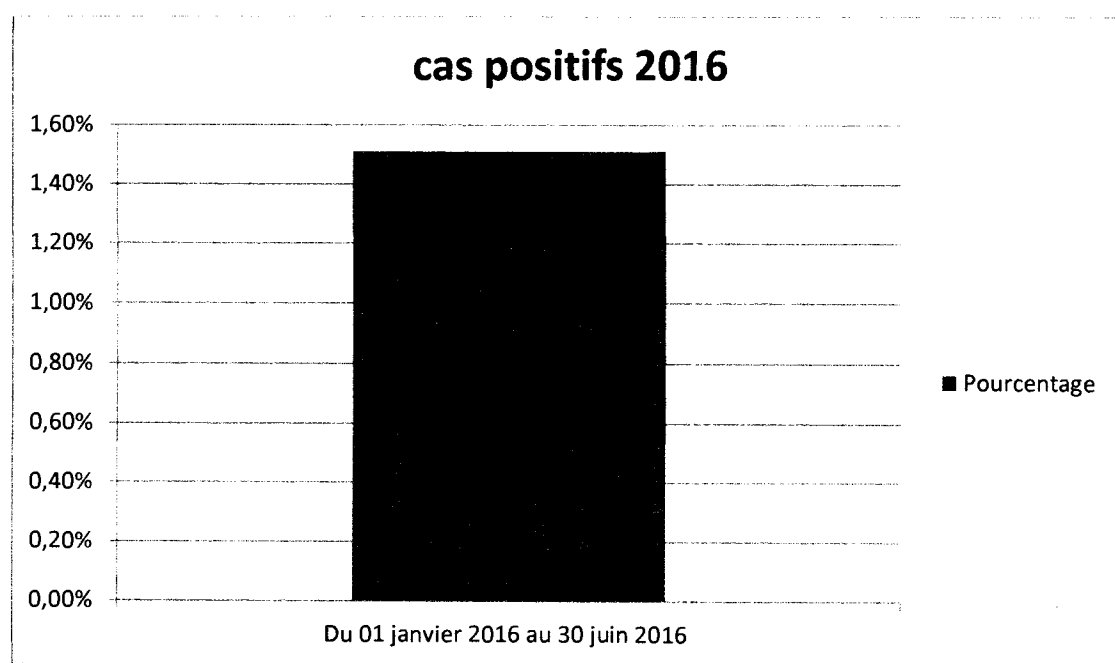


Figure 20:pourcentage de cas HCV séropositifs par rapport au nombre total des tests effectués durant la période 01 janvier 2016 au 30 juin 2016

Discussion :

-Ce tableau représente 395 cas dépistés pendant l'an 2016 dont 06 cas sont séropositifs(1,51 %).

VI.1-3.A prévalence sexe:

	Sexe masculin	Sexe féminin
Nombre total de patients	328	67
Nombre de cas positifs en HCV	3	3
Pourcentages	0,91%	4,47%

Tableau 10: Répartition des cas séropositifs en HCV selon le sexe

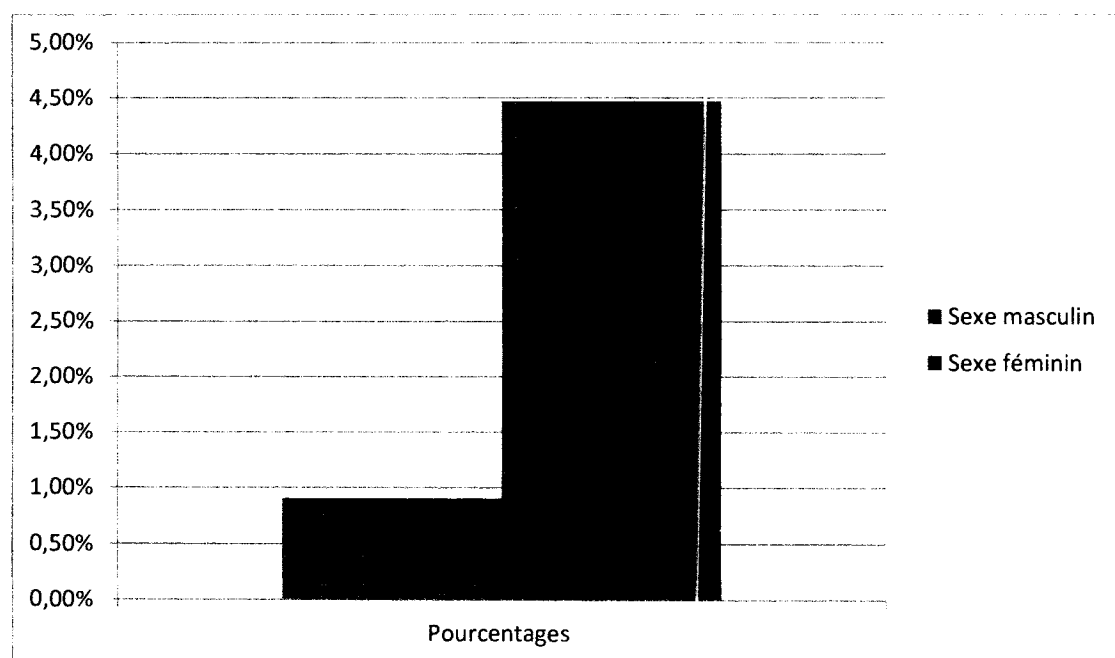


Figure 21: Représentation des résultats du sexe séropositif

Discussion :

Nous constatons que la majorité des cas HCV séropositifs sont de sexe féminin avec un taux 4,47%

et que 0,91 % sont du sexe masculin .

VI.1-3.B prévalence selon service

	Ab d El Na bi	ali ben Abbe s	Mai zi	Elra zi	Ben Badd is	Ibn el Khati b	Feki r	Ibn Sin a	Alla mi	Exter ne
Nombre total de patients	35	19	106	21	15	48	49	50	31	21
Nombre total de séropositifs en HCV	0	1	0	0	0	2	1	0	2	0
Pourcentag es	0%	5,26 %	0%	0%	0%	4,16 %	2,04 %	0%	6,45 %	0%

Tableau 11: Représentation des cas séropositifs en HCV Selon les échantillons provenant des services

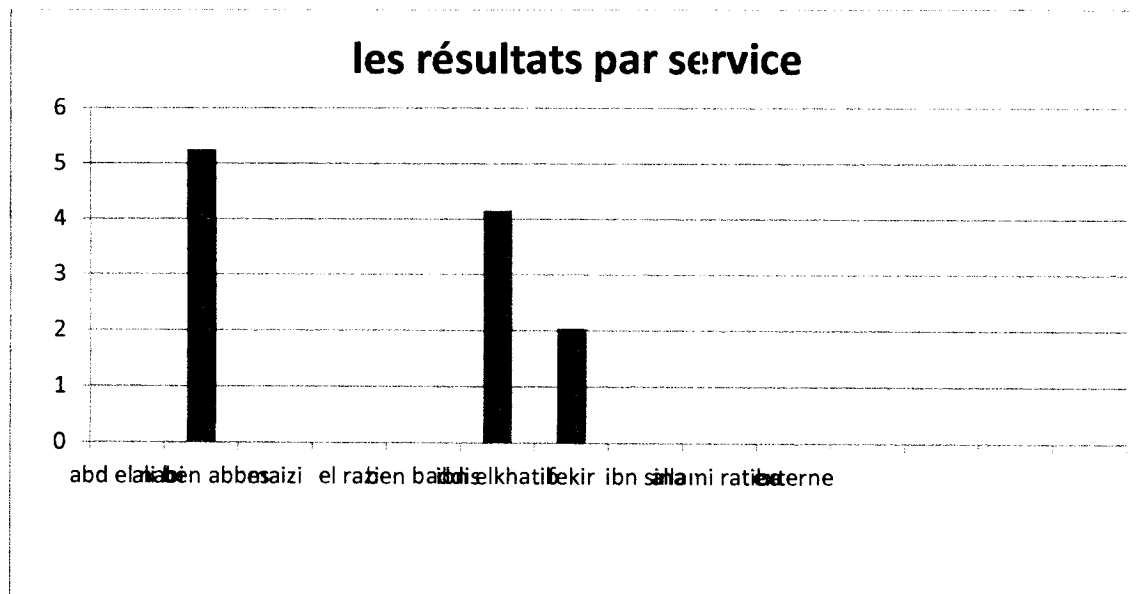


Figure 22: Représentation des résultats par service

Discussion :

Selon les statistiques nous avons constaté que le pourcentage de l'hépatite virale C est plus important dans le service Maizzi chez lesquels nous avons suspecté une hépatite virale par rapport aux autres patients .

parmi les 48 échantillons provenant de service Ibn Khatib 02 sont revenus HCV positifs avec un taux de 2,04%.

parmi les 31 échantillons provenant de service Allami ratiba 02 sont revenus HCV positifs avec un taux de 6,45%.

parmi les 19 échantillons provenant de service Alli ibn abbes 01 est revenu HCV positif avec un taux de 5,26%.

VI.2 interprétation et analyse des résultats :

Etude statistique des résultats obtenus au niveau du laboratoires de psychiatrie :

le nombre d'échantillon enregistrés au niveau du laboratoire de psychiatrie est 1498 échantillon sont sérologie VHC négative en VHC et 52 sont sérologie positive.

Le laboratoire a reçu également 18 prélèvements non conformes pendant les années (2013,2014, 2015,2016) dont la recherche sérologique de l'HVC n'a pas été faite. Parmi les 52 patients ayant une sérologie VHC positive, 0 patient était co-infectés par le VIH et 0 patient par le VHB.

Selon les statistiques que nous avons fait au laboratoire de l'EHS psychiatrique nous remarquons que le nombre de cas séropositifs a augmenté durant la période 1er janvier 2013 au 31 décembre 2014. à savoir qu'en 2013 nous avons eu 5,22 % des patients dépistés sont séropositifs pour l'HCV et en 2014, 6,86 % de cas diagnostiqué séropositifs l'augmentation des cas séropositifs de 2013 à 2014 peut-être dû au nombre de patients dépistés (prélevés) qui est de 306 en 2013 et de 408 en 2014 donc plus le nombre des dépistages augmente plus nous découvrons de nouvelles infections chez les patients de l'EHS.

Nous remarquons que la majorité de ces cas séropositifs sont de sexe masculin avec un taux 9,63% et que 2,12 sont de sexe féminin ceci peut être expliqué par l'utilisation de drogue par voie intraveineuse et l'échange de seringues plus fréquente chez les hommes que les femmes.

- le test ELISA est un bon test de dépistage des infections virales mais n'est pas un test de diagnostic final de certitude, d'où la présence des méthodes de diagnostic de certitude plus spécifiques pour la confirmation des infections virales et le suivie thérapeutique des malades est indispensable dans tous les laboratoires de sérologie infectieuse.
- l'automatisation des technique ELISA pour réduire les risques des faux positifs dus aux contaminations pendant les lavages.

Le dépistage de l'hépatite C doit se faire systématiquement chez les patients à chaque admission hospitalière et soins dentaires.

« DE PREVENIR MIEUX QUE DE GUERIR »

Conclusion

L'hépatite C est un problème majeur de santé publique. Des progrès ont été réalisés et depuis 2001, le traitement de l'hépatite C par l'association IFN-PEG et RBV permet d'obtenir environ 55 % de réponse prolongée.

Cependant, les résultats ne sont pas totalement satisfaisants, avec environ 45 % de patients non répondeurs.

Une augmentation de l'incidence des cirrhoses et des carcinomes hépatocellulaires liés au VHC est attendue dans les dix prochaines années. Un dépistage à large échelle et l'amélioration de l'efficacité des traitements sont nécessaires pour ralentir ou arrêter la progression de la maladie du foie chez les sujets infectés. Cela signifie que des efforts majeurs sont nécessaires pour améliorer l'efficacité et réduire le coût des traitements, afin de permettre une meilleure prise en charge du plus grand nombre de patients dans le monde.

la prévalence au laboratoire psychiatrie de l'hôpital Frantz fanon-blida a permis d'estimer le niveau d'infection à VHC par le dépistage d'un nombre élevé de personnes (1550).

Cette approche est d'importance pour la détermination des porteurs chroniques du VHC qui va permettre de détecter la maladie à un stade précoce, augmentant la chance de stabilisation.

Un diagnostic rapide et précis basé sur la biologie moléculaire est essentiel pour écarter les autres pathologies qui pourraient entraîner les mêmes symptômes ou des symptômes proches et orienter les modalités de prise en charge.

la confirmation du diagnostic permet d'arrêter les investigations diagnostiques et de mettre en place et/ou poursuivre un traitement adapté.

Elle permet ainsi d'informer les populations sur les signes d'alerte, de proposer un traitement de proposer un traitement adapté et de mettre en place un suivi adapté.

Ce dépistage va permettre aussi d'éviter d'autres contaminations en incitant les individus identifiés porteurs de ce virus, de prendre des dispositions pour éviter de contaminer d'autres personnes.

L'évaluation de la prévalence du VHC va permettre aussi de suivre l'évolution du virus à l'échelle locale et nationale.

La prévalence de l'hépatite C doit faire l'objet d'actions d'amélioration qui nécessitent une stratégie nationale et une mobilisation pluridisciplinaire et pluri-professionnelle pour organiser les filières de prise en charge.

La stratégie devrait inclure un programme de ciblage des efforts de prévention du VHC, y compris la sensibilisation du public et la définition des exigences en matière de sécurité et de la promotion des normes de contrôle des infections dans les établissements de soins.

Références bibliographiques

ANAES Agence National d'Accréditation et d'Evaluation e, Santé française : Guide d'analyse de la littérature et de gradation des recommandations, ANAES Paris 2000.

(5-14) p.

Alter M.D : Epidémiologie of hépatites C in the west siminars in liver disease. 1995. Page 15(5).

Awad T , Thorlund K , Hausser G , Stimac D , mabrouk M glud C.: peginterferon alpha-2a is associated with higher sustained virological response than peginterferon alpha-2b in chronic hepatitis C : systematic review of randomized trials . Hepatologie .2010; 51(4):1176-1184.

BACVT /E Thiry : virologie vétérinaire 3 BACVT /E Thiry

Bourliere M, Barberin JM, Rotily M, et al: Epidemiological changes in hepatitis C virus genotype in France : evidence in intravenous drug users . J. viral Hepat. 2002 ; pages 62-70.

Besters D , cuypers HT , Reesik HW , Schaasberg WP , van der Poel CL, Mausser-Bunschoten EP , et al.: Echanced sensitivity of a second generation ELISA for antibody to hepatitis C virus. Vox sang. 1992; 62(4):2013-2017.

Besters D. Reesink H.W: Sexual transmission of hepatitis C virus. 1993. Lancet 342: 210-211

Buffet et Pelletier : hépatologie. Masson Paris 1994 (57-58) p.

Bouvier-alias M, Patel K, Dahari H, Beauccourt S, Larderie P , Blatt L , et al.:

Clinical utility of total HCV core antigen quantification: a new indirect marker pf HCV replication. Hepatology 2002;211-218

Chiavetta, J., et al : Estimated risk of transfusion transmitted infection in the Canadian blood supply (1987-1996). Vox Sang, 2000. 78(suppl 1):p.360.

Crips Ile –de-France et l'institut national de prévention et d'éducation pour la santé (INPES) : Réduire les risques d'infectieux chez les usagers de drogues par voie intraveineuse juillet 2009

Dr. Belatef Malek : les hépatites virales A, B, C, D, E, TT, et F. 2ème Edition 2002 (53-101)p

Dr. dominique Bettinger : le virus d'hépatite C. Laboratoire de virologie CHU saint jacques Besançon Le 17 Avril 2004

Dr. Marika Rudler (2008) : Les hépatites virales DIU médecine de voyage. 15 mai 2008

Dr. M. SEGONDY (2005) : Hépatites virales _ diagnostic et suivi biologique des hépatites virales. novembre 2005

Dr Nabil BAHOURA : cour de 1^{ère} année résidanat de microbiologie. Laboratoire Virus et cancer service de virologie institut pasteur Algérie

EASL. Clinical practice guideline: Management of hepatitis C virus infection . Journal of hepatology 2011

Eugène C., Costentin L. et Beeaulien S. : les hépatites virales . Masson Paris 2004. (20-101)p.

Filoché B.: traitement de l'hépatite C et usage de drogue. Gastroenterol clin biol 226 :b252-6

Fournillier-Jacob A, Lunel F, Cahour A, Cresta P, Frangeul L, Perrin M, et al : Antibody responses to hepatitis C envelope proteins in patients with acute or chronic hepatitis C . J med virol. 1996; 50 (2):159_167

Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, Smith C, Marinos G, Gonçales FL, et al: Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection . N Engl J Med. 2002; 347(13):975_982

Galel SA, Strong DM, Tegtmeier GE, Hollond PV, Kuramoto IK, Kemper M, et al:
Comparative yield of HCV RNA testing in blood donors screened by 2.0 versus 3.0
antibody assays. *Transfusion*. 2002; 42(11):1507_1513

**Gregory Taylor M. Serv.Soc.TSCA:Hépatite C Prise en charge symptôme courants et
effets secondaires du traitement. mars 2011**

**Jean-marie Huraux avec la participation de Henri Agut , Anne-Marie Fillet Vincent
Calvez , Vincent Thaibault, Agnès Gautheret-Djejean Anne-Geneviève Marcelin, Clair
Deback Virologie DCEM1 2006_2007 Mise à jour : 5 février 2008**

**Jean-Marie Huraux , Henri Agut , Jean-Claud Nicolas, Hélène Peigue-Lafeille : Traité
de virologie médicale édition-18 juillet 2006**

Kaito M : HCV particule detected by immuno electron microscopie study. *JGen.
Viral.*(1755-1760) p.1994

Kuo G, Ghoo QL, Alter HJ, Gitnick, Redeker AG, Purcell RH, et al:

An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human non-A, non-B
hepatitis. *Science*. 1989; 244(4902):362_364

KRATTINGER Rhevir 2006 : REF Épidémiologie régionale du VHC A propos d'une
nouvelle technique de géotypage Elise.

**Laperche S , Marrec NL, Girault A , Bauchardeau F, Servant-Delmas A ; Maniez-
Montreuil M, et al:** Simultaneous detection of hepatitis C virus (HCV) core antigen and
anti-HCV antibodies improve the early detection of HCV infection . *J.Clin
Microbiol.*2005;43(8):3877_3883)

Larousse medical 2010.

Lok AS, Chien D, Choo QL, Chan TM, Chiu EK , Cheng IK , et al.:

Antibody response to core, envelope and nonstructural hepatitis C virus antigens :
comparison of immunocompetent and immunodeficient patients . *Hepatology*. 1993;
18(3):97_502)

Mannas MP, Wedemeyer H, Cornberg M.: Treating viral hepatitis C: efficacy, side effects, and complication. *Gut*. 2006; 55(9):1350_1359

Michael Carter : Le VIH et les hépatites. Premier édition française 2010

Moor, A.C.E., et al. : Transfusion-Transmitted diseases : risks, prevention and perspectives. *European Journal of Hematology*, 1999. 66(1):p.1_8

Naveau S. et Bilian A: Hépto-gastro-entérologie. Masson Paris 2003.(94-98)p.

Ogata N, Alter HJ, Miller RH, Pruce RH. : Nucleotide sequence and mutation rate of the Hsuain of hepatitis C virus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88:3392-6.

Paul Dény Dominique et Roulat : Virus de l'hépatite C. Elsevier Masson 2003.(10-30)p.2003

Pawlotsky JM: Use and interpretation of virological tests for hepatitis C. *Hepatology*.2002; 36(5 Suppl 1): S65_S73).

Poordad FF.: Review article : the role of rapid virological response in determining treatment duration for chronic hepatitis C. *Aliment Pharmacol Ther*. 2010; 31(12): 1251_1267

Pr. berkane Saadi et PR. Debzi Nabil : Prise en charge de l'hépatite virale en Algérie. Les professeurs Berkane Saadi, de l'EHS Bologhine et Debzi Nabil de CHU Mustapha Bacha, ont animé le 8 janvier 2012, une conférence-débat au forum d'El Moudjahid, à la veille de la journée nationale des Hépatites, qui célèbre le 12 janvier de chaque année.

Pr. Daniel Dhumeaux : Prise en charge des personnes infectées par le virus de l'hépatite B ou de l'hépatite C. 2014

Ranger.s : Virus de l'hépatite c : Epidémiologie. *Immuno. Anal. Biol. Spec.* 26 : 57-60.1991.

Roudot Thoaraval P. :Epidémiologie de l'hépatite C .Méd Mal Infect 200. (27-33)p.

Simmonds P,Holmes EC ,Cha A ,et al. :Classification of hepatitis C virus into six major genotypes and a series of subtypes [Phylogenetic of the NS-5 region. J Gen Virol 1993;74(part 1):293-9

Thio CL,Nolt KR,Astemborski J,Vlahov D, Nelson KE,Thomas DL.:

Screening for hepatitis C virus in human immunodeficiency virus-infected individuals. J Clin Microbiol . 2000 ; 38(2) : 275_577).

Université médicale virtuelle Francophone (2008-2009):

Hépatite virale . Anomalies biologiques hépatiques chez un sujet asymptomatique 2008-2009.

Uyttendaele S,Claeys H,Mertens W,Verhaert H,Vermeylen C. :

Evaluation of third-generation screening and confirmatory assays for HCV antibodies. Vox sang. 1994 ; 66(2):122-129.

Université des sciences de la santé CAMBODGE-LAOS avec la participation de l'université Pierre et Marie Curie, tests immuno-enzymologique (ELISA, Exemple de sérologie) DES de biologie médicale , enseignement d'immunologie septembre 2009.

Vala D. :transmission du virus de l'hépatite C-médecine thérapeutique vol.1,n°2 avril 1995

Van der poel C.L :Hepatitis C virus and blood transfusion : past and present risk. J Hepatol 1999.(101-106)p.

Vries ,J.,W.van Drop,and O,van Barnevelde:

A randomized control trial of alcohol 70 % versus alcoholic iodine 2% in skin disinfection before insertion of peripheral infusion catheters. JOURNAL OF Hospital Infection 1997.36 :p317-20.

Zanetti A.R.et anzi E.:Mother-to-infant transmission of hepatitis C virus J Hepatol 1999. (96-100)p.

Web graphie:

<https://www.aaalac.org>

Annexes

Annexe 1

L'évolution des tests sérologiques de dépistage du HCV

Les anticorps anti-HCV sont détectés grâce à des technique ELISA enzyme-linked immunosorbent assays), en général de 3^{ème} génération, dans le sérum ou le plasma humain.

L'utilisation d'antigène et plus récemment d'anticorps spécifiques permet de capturer respectivement des anticorps et les antigènes viraux sériques correspondants sur une microplaque. Ces complexe antigène-anticorps seront ensuite révéler grâce à une réaction enzymatique colorée.

En 1990, le dépistage de l'hépatite C des donneurs de sang été effectué avec des tests ELISA dit le 1^{ère} génération. Ces tests reposaient sur une seule protéine recombinante localisée au niveau de la région NS4 (c100-3) du génome du HCV.

(Kuo G, Choo QL, Alter HJ, Gitnick GL, Redeker AG, Purcell RH, et al, 1989) Ils étaient responsables de nombreux faux positifs et faux négatifs. **(Fournillier-Jacob A, Lunel F, Cahour A, Cresta P, Frangeul L, Perrin M, et al.1996)**

Afin de gagner en sensibilité et spécificité des protéines à la fois structural et non structural on été utilisées.

Ainsi en 1992, des teste de 2^{ème} génération, permettant la détection des anticorps dirigés contre les protéines recombinantes des régions NS4 (c100-3), C(c22-3) et NS3 (c33c) du génome de HCV, ont fait leur apparition et ont permis d'augmenter nettement la sensibilité. **(Bresters D, Cuypers HT, Reesink HW, Schaasberg WP, van der CL, MauserBunchoten EP, et al.1992)**

Ortho-clinical diagnostics introduit en 1994 une troisième version qui contient un peptide de plus que le test de deuxième génération ,localisé au niveau de la région NS5. Les tests de 3^{ème} génération ont apporté un réel gain de sensibilité et de spécificité. **(Uyttendaele S, Claeys H, Mertens W, Verhaer H, vermylen C, 1994)**

Une étude américaine réalisée entre juin 1999 et juillet 2000 sur des donneurs de sang compare un test de 2^{ème} génération et un de 3^{ème} génération. Elle a montré qu'avec le test de 2^{ème} génération, 17 sujets avec ARN Viral étaient dépistés négatifs en anticorps anti-HCV que le test de 3^{ème} génération permettant d'en récupérer des 10 sur les 14 qui ont pu être testé **(Galel SA, Strong DM, Tegtmeier GE, Holland PV, Kuramoto IK,Kemper M, et al, 2002).**

Le test de 4^{ème} génération: Monolisa® HCV Ag-Ab ultra (Biorad)

Afin de réduire la fenêtre sérologique lors d'une infection récente par le HCV, une alternative à la PCR, qui reste coûteuse, est la détection simultanée des anticorps et des antigènes de HCV comme cela se fait déjà pour le dépistage du VIH.

Le test Monolisa® HCV Ag-Ab ultra est un test de 4^{ème} génération permettant la détection combinée des anticorps anti-HCV et de l'antigène du Cap site de HCV. Une étude réalisée en 2005 sur un panel d'échantillons provenant de 10 séroconversions HCV montre que ce test permet de réduire la fenêtre sérologique

De 27 jours environ. Il présente une grande utilité dans le dépistage des patients à risque, d'une part pour traiter rapidement l'hépatite C aiguë et d'autre part pour réduire le risque de transmission secondaire par la détection précoce de l'infection.

Les tests combinés présentent également un intérêt certain pour les sujets infectés par le VIH. Du fait de leur difficulté à développer rapidement une réponse immunitaire spécifique de HCV, les patients infectés par le VIH présente un délai de séroconversion plus long.

Les usagers de drogues IV qui constitue le principal groupe à risque d'hépatite C dans les pays industrialisés, son pour 10% environ co-infectés par le VIH. Une étude réalisée sur un panel de 95 échantillons provenant de 20 patients positifs pour le VIH avec une hépatite C aiguë compare le test de 3^{ème} génération Monolisa® anti-HCV plus v2 au Monolisa® HCV Ag-Ab Ultra.

L'hépatite C est détectée plus tôt chez 65 % des sujets avec le test combiné par rapport au test de 3^{ème} génération. En effet, alors que le test de 3^{ème} génération se positive 77 jours après le PCR VHC, le test de 4^{ème} génération permet une détection seulement 27 jours après le PCR.

Concernant le dépistage du sang de donneur, les tests de 4^{ème} génération ne peuvent pas remplacer la détection de l'ARN virale qui reste plus sensible. Cependant, ils constituent une bonne alternative dans le pays en voie de développement ou la recherche de l'ARN virale ne peut pas être effectuée pour des raisons d'organisation, de cout, ou encore de difficultés logistiques, De par la forte prévalence de l'hépatite C chez les toxicomanes IV et la proportion relativement importante de co-infectés par le VIH, les testes de 4^{ème} génération présentent un réel intérêt dans cette population. Mais il faut bien noter que dans le cas d'une suspicion clinique d'hépatite C aiguë le test de 4^{ème} génération ne remplacera pas la recherche de l'ARN viral.

Annexe 2

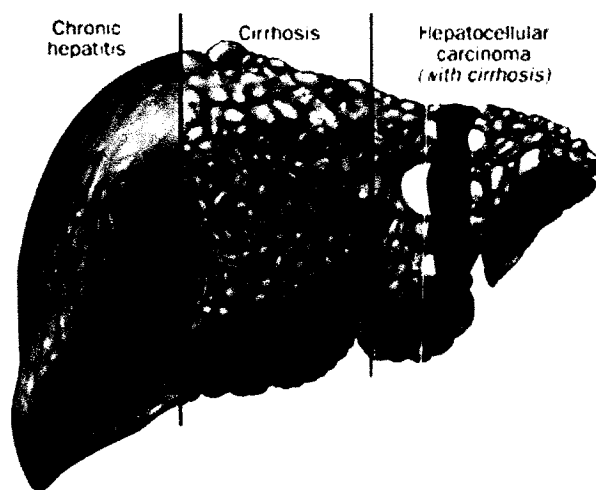


Figure 23: La gravité de l'hépatite chronique appréciée d'après la biopsie de foie



Figure 24: FOIE SAIN

Annexe 3

Procédures de prélèvement sanguin veineux

Etape 1: assemblage du matériel

Rassembler tous les éléments nécessaires à la procédure et les placer dans un endroit sûr et facile à atteindre sur un plateau ou un chariot, s'assurer que tous ces objets sont clairement visibles.

Le matériel nécessaire comprend:

- un jeu de tubes de prélèvements, qui doivent être conservés au sac et verticaux dans un porte tubes.
- des tubes en verre ou en matière plastique stériles de préférence sans anti-coagulant, pourvus de bouchons en caoutchouc (à défaut avec anticoagulant comme l'EDTA, l'héparine, le citrate, l'ACD, le CPD et le CPDA).
- des agents non stériles bien ajustés.
- un assortiment de dispositifs de prélèvement (dispositifs sécurisés ou aiguilles et seringue).
- un garrot.
- une solution hydro-alcoolique.
- des tampons imprégnés d'alcool à 70 % pour la désinfection de la peau.
- de la gaze ou un morceau de coton à appliquer sur le site de ponction.
- sparadrap.
- des étiquettes pour échantillons de laboratoire.
- du matériel pour écrire.
- des formules de laboratoire.
- des sacs et des conteneurs de transport résistant aux perforations.
- un collecteur pour déchets piquants/tranchants résistant aux perforations.

S'assurer que le support à tubes est proche de l'agent de santé, mais à distance de patient, pour éviter qu'il ne soit renversé accidentellement.

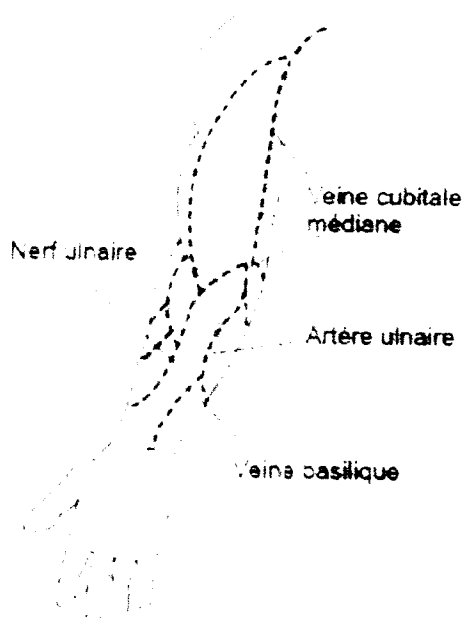


Etape 2: identifier et préparer une patient

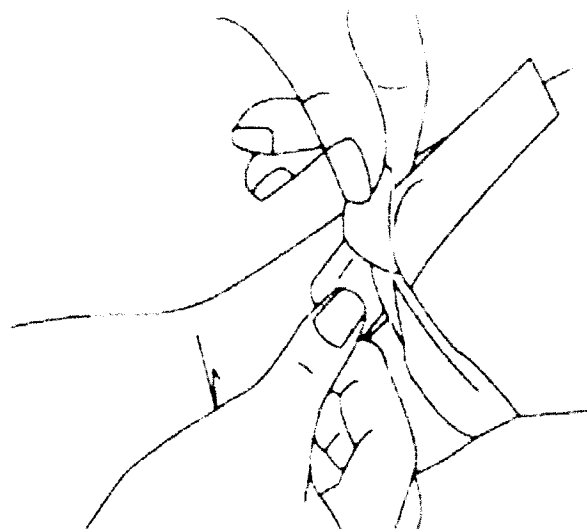
- Se présenter au patient et lui demander d'indiquer son nom complet.
- vérifiez que l'identité du patient concorde avec les indications du formulaire de laboratoire (vérifier la conformité des coordonnées indiquées par le patient avec celles figurant sur le formulaire pour garantir une identification exacte).
- Demander au patient s'il souffre d'allergies, de phobies et s'il a déjà perdu connaissance au cours d'injections ou de prélèvements antérieurs.
- si le patient est anxieux ou effrayé, le rassurer et lui demander ce qui le mettrait plus à l'aise.
- Faire allonger le patient de manière confortable sur le dos (si cela est possible).
- Placer un morceau de papier ou une serviette propre sous le bras de passion.
- Présenter l'examen devant être pratiqué et obtenir un consentement verbal. à tout moment avant le prélèvement de sang, le patient a le droit de refuser un examen, de sorte qu'il est important de s'assurer qu'il a compris la procédure.

Etape 3: choix du site

- Etendre le bras du patient et inspecter la force antécubitale ou l'avant-bras.
- Localiser une veine de bonne taille, à la fois visible, droite et claire.
- La veine doit être visible avant de mettre en place le garrot. localiser la veine aide à choisir le bon calibre d'aiguille.



- Installer le garrot environ 4 à 5 largeur de doigts au-dessus du site de ponction et examiner à nouveau la veine.



Chez les patients hospitalisés, ne pas prélever de son à partir d'un accès veineux périphérique existant car on pourrait obtenir des résultats faux. L'hémolyse, la

contamination et la présence de fluide et de médicaments perfusés peuvent en effet altérer les résultats.

Etape 4: effectuer les gestes d'hygiène des mains et enfiler les gants

- Pratiquer les gestes d'hygiène des mains, c'est-à-dire:
 - se laver les mains à l'eau et au savon et les sécher avec le serviette à usage unique; ou
 - si les mains ne sont pas visiblement contaminées, les nettoyer avec une solution hydro-alcoolique verser 3 ml de cette solution sur la paume d'une main et les étendre en frottant jusqu'au bout des doigts, au dos des mains et sur l'ensemble des deux mains jusqu'à ce que celle-ci soit sèches.
- Après gestes d'hygiène des mains, enfiler des gants stériles bien ajustés.

Etape 5: désinfecter le site d'entrée

A moins qu'on ne prépare un prélèvement pour un hémoculture ou une collecte de sang, nettoyer le site avec un tampon imprégné d'alcool à 70% pendant 30 secondes et laisser sécher complètement

(AAALAC International,2001)(Vries, J., W.van Dorp,and P.van Barneveld)

Note: l'alcool est préférable à la povidone iodée car la contamination du sang par ce dernier désinfectant peut augmenter faussement les concentrations de potassium, de phosphore ou d'acide urique dans les résultats de laboratoire. (Chiavitta, J.,et al.1987-1996) (Moor,

A.C.E., et al.,1999)

- Appliquer une pression ferme, mais douce. Partir du centre du site de ponction et couvrir en

déplaçant le tampon vers le bas et l'extérieur une surface de 2cm de côté ou plus.

- Laisser cette zone sécher. Ecourter le temps de contact accroît le risque de contamination.
- Ne pas toucher le site nettoyé. En particulier, NE PAS placer un doigt sur la veine pour guider la tige de l'aiguille exposée. Si le site a été touché, le désinfecter une nouvelle fois.

ETAPE 6 : Prélever le sang ; ponction veineuse

- Immobiliser la veine en tenant le bras du patient et en plaçant un pouce *au-dessous* du site de ponction.
- Demander au patient de fermer le poing de manière à ce que les veines soient plus proéminentes.



- Pénétrer rapidement dans la veine avec un angle de 30° ou moins et continuer à introduire l'aiguille dans la veine avec l'angle de pénétration le plus facile.



- Une fois qu'une quantité suffisante de sang a été prélevée, relâcher le garrot AVANT de retirer l'aiguille. Certaines recommandations suggèrent de retirer le garrot dès que la

circulation du sang est établie et de manière à ce qu'il ne reste pas en place plus de deux minutes.

- Retirer doucement l'aiguille et appliquer une pression légère sur le cite avec une compresse propre ou un morceau de coton sec. Demander au patient de maintenir cette compresse ou ce morceau de coton en place, en gardant le bras étendu et soulevé. Prier le patient de ne PAS plier le bras car cela provoque un hématome.

ETAPE 7 : Remplissage des tubes de prélèvement

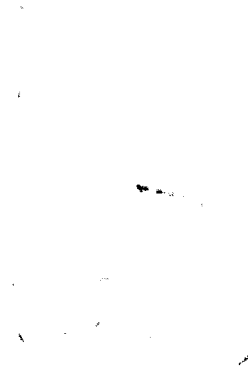
Si l'on emploie un système comprenant seringue ou une aiguille à ailettes, la meilleure pratique consiste à placer le tube dans un support avant de le remplir. Pour prévenir les piqûres d'aiguille, n'utiliser qu'une main pour remplir le tube ou un écran à aiguille entre l'aiguille et la main tenant le tube.

- Percer le bouchon du tube de prélèvement en piquant l'aiguille directement au-dessus du tube et en appliquant une pression modérée et constante. Ne pas appuyer sur le piston de la seringue car une pression supplémentaire accroît le risque d'hémolyse.
- Si le tube de prélèvement n'est pas équipé d'un bouchon en caoutchouc, injecter extrêmement lentement dans le tube pour réduire le risque d'hémolyse (pour limiter le risque d'hémolyse lors du transfert de sang à travers une aiguille montée sur une seringue, minimiser la pression et vitesse utilisée pour transférer l'échantillon). NE PAS recapuchonner et retirer l'aiguille.

- Avant d'expédier les tubes au laboratoire, retourner ceux contenant des additifs.

ETAPE 8 : Nettoyer les surfaces contaminées et achever la partie de la procédure impliquant le patient

- Jeter l'aiguille et la seringue ou le dispositif de prélèvement usagés dans un collecteur pour déchets piquant/tranchants résistant aux perforations.



- Vérifier l'exactitude des étiquettes et des formulaires. Les étiquettes doivent porter, clairement inscrites, les informations requises par le laboratoire, qui comprennent habituellement le nom et le prénom du patient, son numéro de dossier, sa date et la date du prélèvement du sanguin.



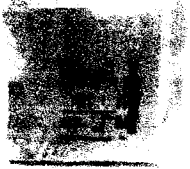



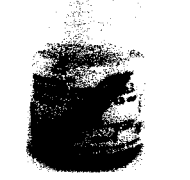
- Se débarrasser des objets usagés dans les catégories de déchets correspondantes. Le matériel utilisé en phlébotomie qui ne risque pas de libérer une goutte de sang en cas de compression (les gants, par exemple) peut être éliminé avec les déchets généraux, sauf mention contraire de la réglementation locale.

- Pratiquer les gestes d'hygiène des mains, comme indiqué plus haut
- Revérifier les étiquettes fixées sur les tubes et les formulaires avant expédition au laboratoire.
- Informer le patient que l'opération est terminée.
- Demander au patient ou au donneur comment il se sent, vérifier l'absence de saignement au site de position, puis remercier la personne et lui dire quelque chose de rassurant au d'encouragement avant qu'elle ne parte.

Etape 9 : Préparer les échantillons en vue du transport

- Emballer les échantillons au laboratoire dans un sac en matière plastique étanche comportant une poche extérieur destinée au formulaire de demande d'examens. Le fait de placer cette demande à l'extérieure contribue à empêcher sa contamination.
- S'il ya plusieurs tubes, les placer dans un panier ou un support rembourré pour éviter la casse pendant le transport.

Annexe 4

REACTIFS	Etiquetage	NATURE DES RÉACTIFS
	R1	<p>MICROPLAQUE : 12 barrettes de 8 cupules sensibilisées avec 3 antigènes recombinants purifiés spécifiques de l'hépatite C</p>
	R2	<p>SOLUTION DE LAVAGE CONCENTRÉE (20X) : Tampon Tris NaCl pH 7,4 70 Conservateur : ProClin™ 300 (0,04%)</p>
	R3	<p>SÉRUM DE CONTRÔLE NÉGATIF : Serum humain négatif en Ag HBs, en anticorps anti-HIV1 et anti-HIV2 et en anticorps anti-HCV Conservateur : Azide de sodium (- 0,1 %)</p>
	R4	<p>SÉRUM DE CONTRÔLE POSITIF : Serum humain contenant des anticorps anti-HCV et négatif pour l'antigène HBs et pour les anticorps anti-HIV1 et anti-HIV2, inactivé photochimiquement Conservateur : Azide de sodium (- 0,1 %)</p>
	R6	<p>DILUANT POUR ÉCHANTILLON : Solution de lait écrémé - tampon PBS additionné du colorant témoin de dépôt échantillon Conservateur : Azide de sodium (- 0,1 %) et Thimerosal (0,01%)</p>





	R7	CONJUGUÉ : Anticorps de chèvre anti-IgG humaines marqués à la peroxydase Conservateur :Thimerosal (0,01%)
	R8	TAMPON SUBSTRAT DE LA PEROXYDASE : Solution d'acide citrique et d'acétate de sodium pH 4.0 contenant 0,015% d'H ₂ O ₂ et 4% de diméthylsulfoxyde (DMSO)
	R9	CHROMOGENE : Solution contenant du tetramethyl benzidine (TMB)
	R10	SOLUTION D'ARRÊT : Solution d'acide sulfurique 1 N

Figure 25:Composition de la tousse Monolisa TM

Annexe 5

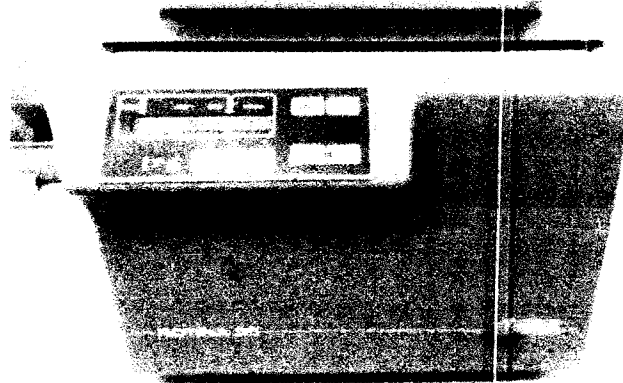


Figure 26: Centrifugeuse

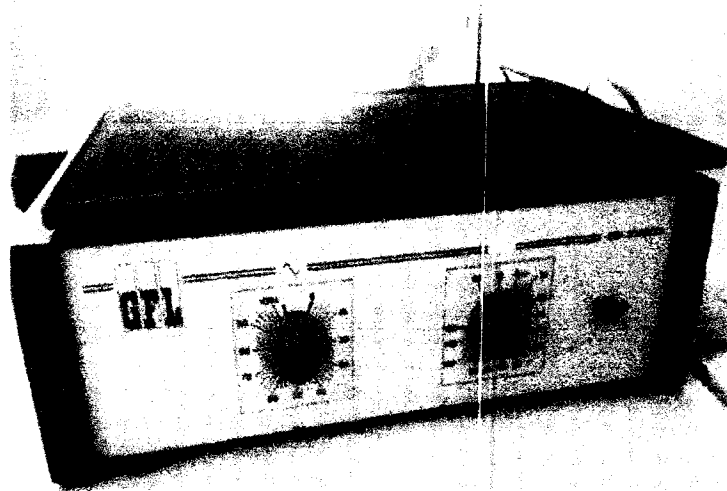


Figure 27: agitateur type vortex

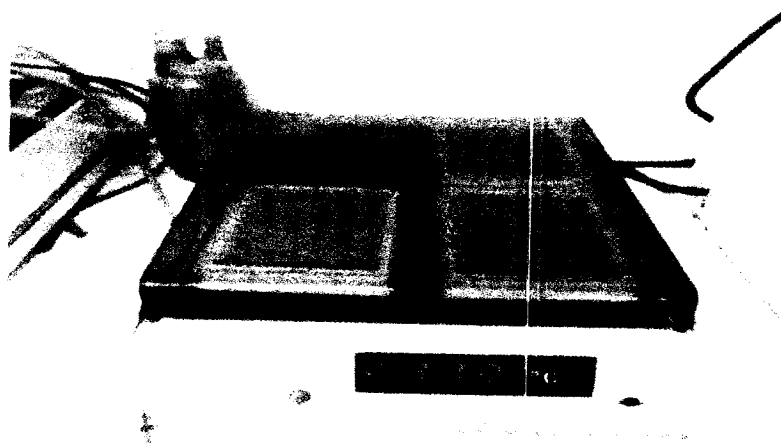


Figure 28: Incubateur pour plaque ELISA

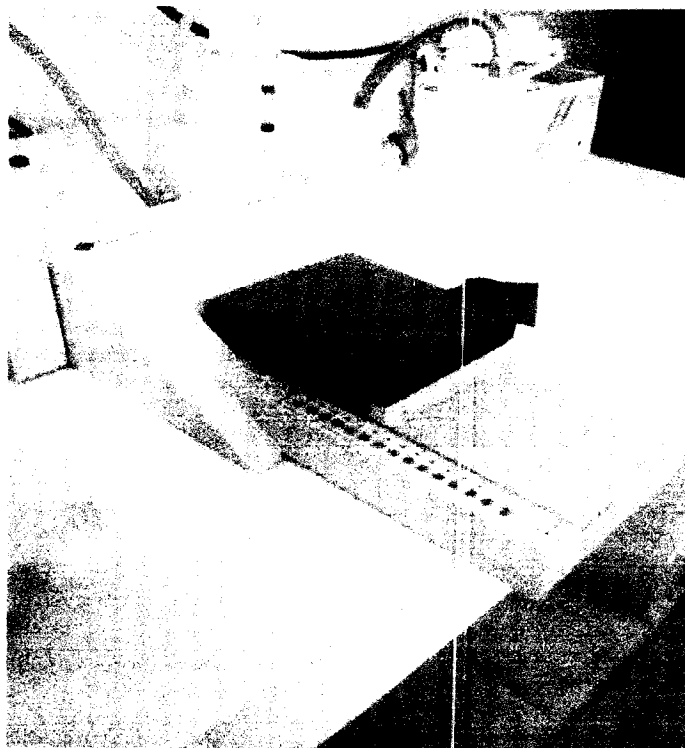


Figure 29: Système de lavage automatique

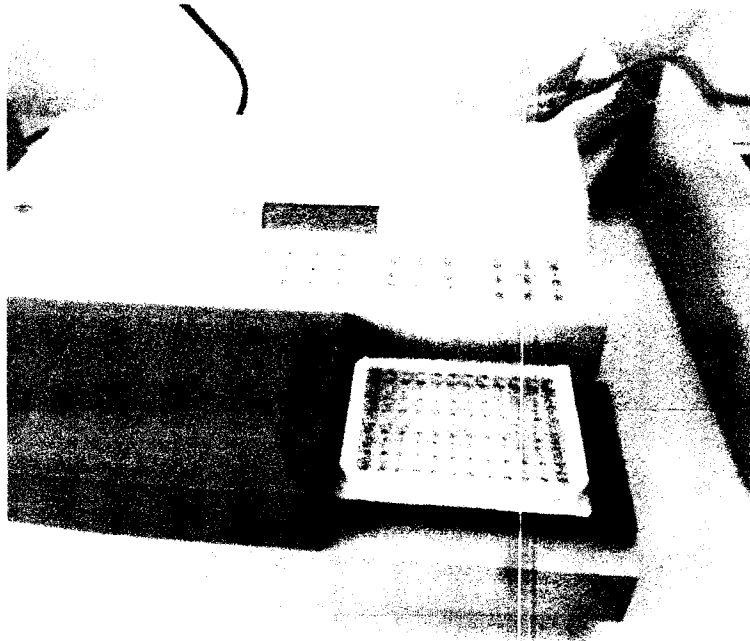


Figure 30:Appareil pour lecture pour microplaque

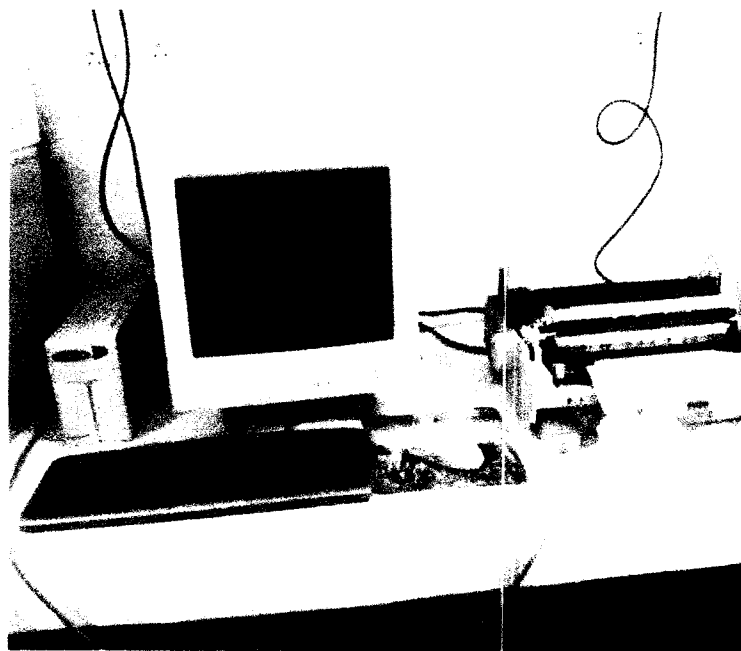


Figure 31:Ordinateur contient un logiciel de lecture des plaques ELISA et une imprimante pour l'impression des résultats

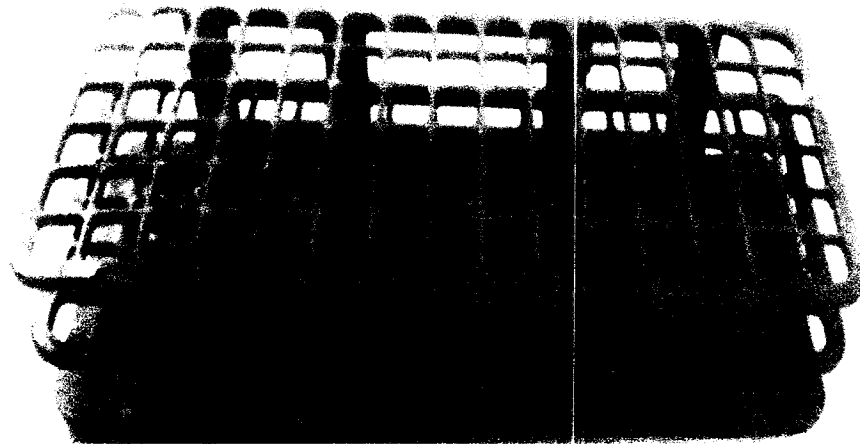


Figure 32:portoir à tubes

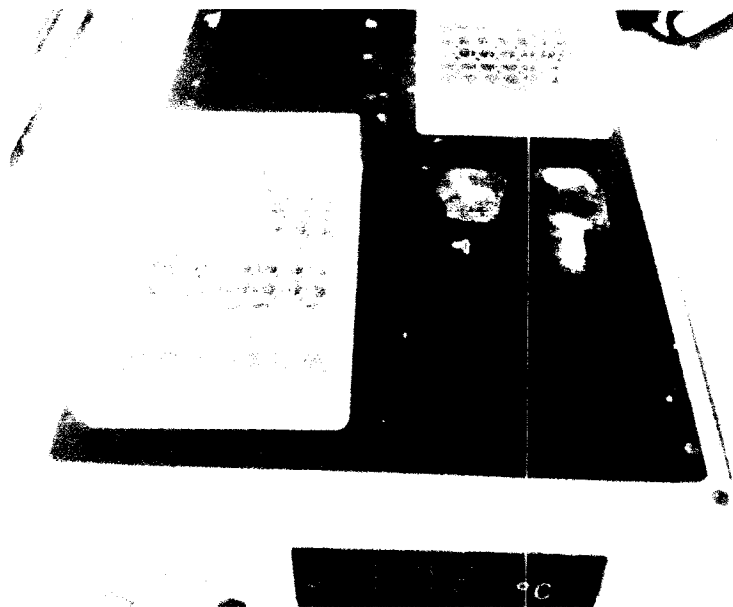


Figure 33:L'incubation de la plaque ELISA



Figure 34: Le lavage de la plaque ELISA

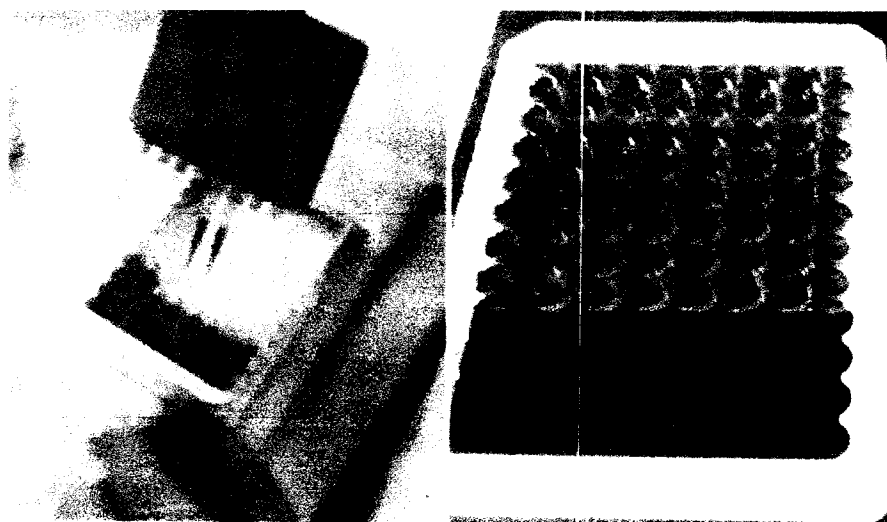


Figure 35: La plaque ELISA pendant et après l'ajout du conjugué

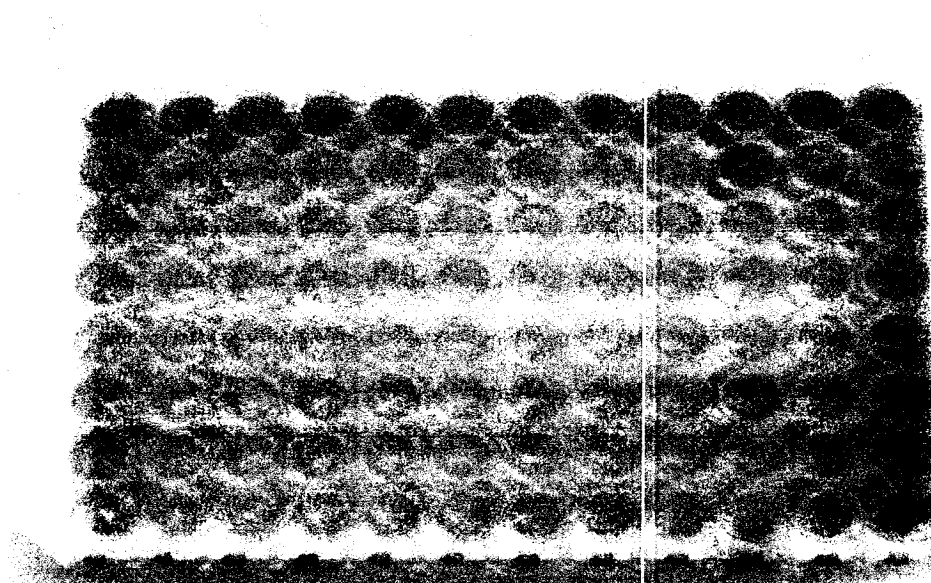


Figure 36: La plaque ELISA après l'ajout du substrat

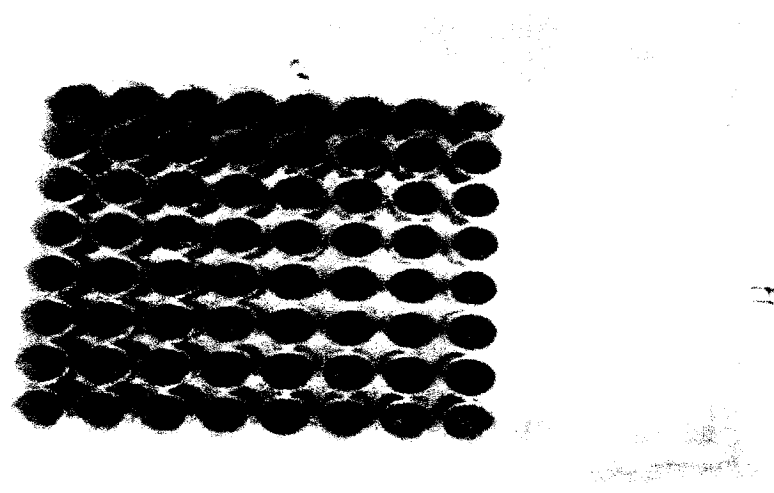


Figure 37: la plaque ELISA après l'ajout du diluant

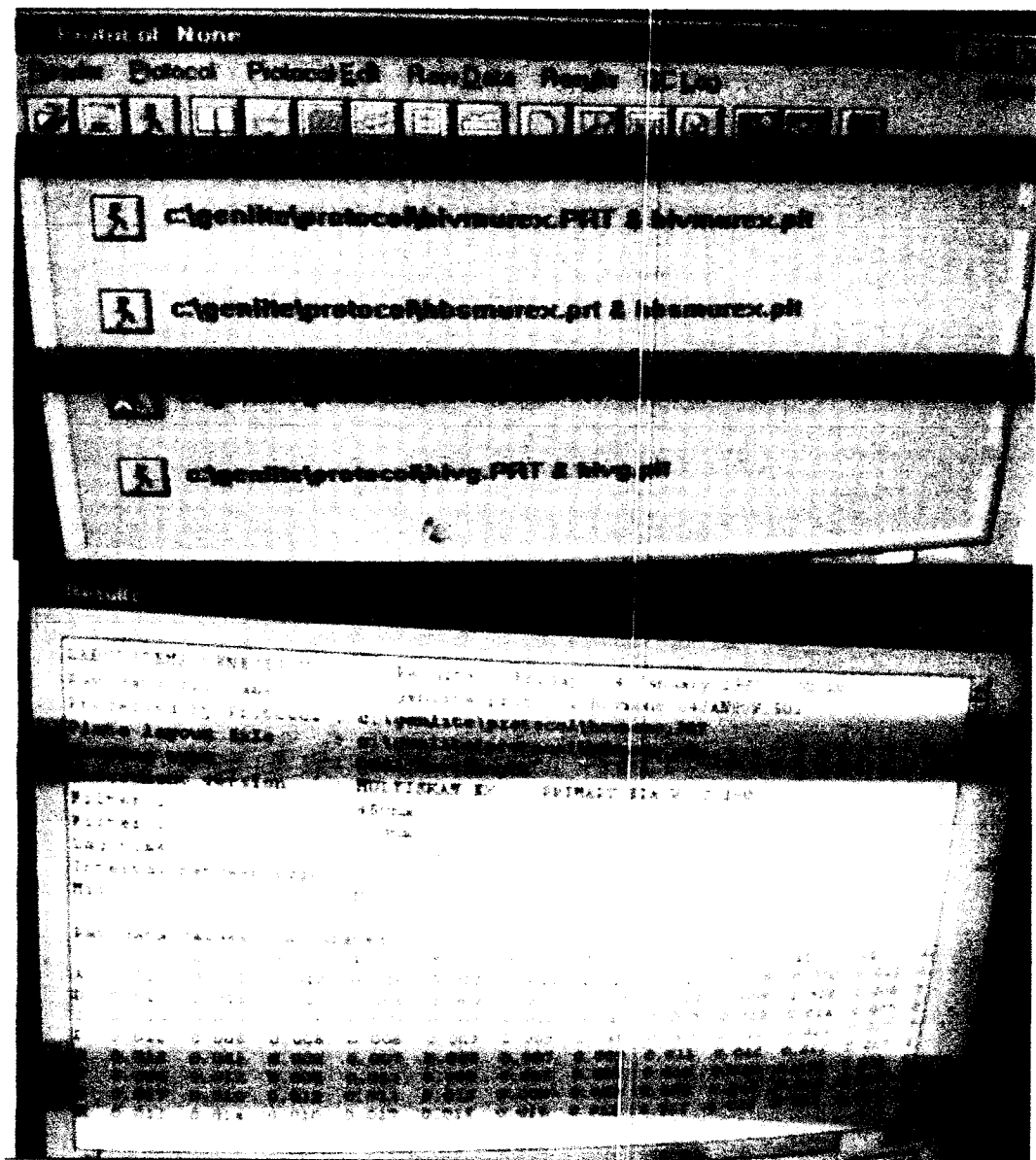


Figure 38: logiciel de la plaque ELISA