

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université SAAD DAHLAB- BLIDA-1-



Faculté des sciences de la nature et de la vie
Département de biologie et physiologie cellulaire
Mémoire de projet de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme
De Master

Domaine : Science biologique

Option : Génie biologique

Thème :

Etude comparative entre deux méthodes immuno-enzymatique ELISA standard et ELISA Optimisée dans le dépistage de l'hépatite virale B et C chez les donneurs de sang et le dosage de quelques paramètres biochimiques en cas de séropositivité

Date de soutenance : 21 /09/2017

Présenté par :

M^{lle} Amari Salma

M^{me} Bendaoud selma

Devant le jury :

M^{me} Saadi. L

MCA

Présidente

M^{me} Amokrane. A

MAA

Examinatrice

M^{me} Benaazouz. F

MAA

Promotrice

2017/2018

remerciement

Nous d'abord remercier Dieu le tout puissant qui nous a donné le courage et la patience afin d'accomplir ce travail

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

Nous remercions en particulier :

***Mme Saadi.L et Mme Amoukrane.A** qui nous a fait l'honneur de présider le jury, et à qui nous adressons nos sincères gratitude.*

Nous tenons à remercier très cordialement notre promotrice :

***Mme Benaazouz. F** pour avoir accepté de diriger notre travail, pour son aide, son orientation, sa gentillesse et pour tous ses encouragements*

*Nos remerciements s'adressent à toute l'équipe du centre de transfusion sanguine et surtout à **Mr Walid et Mr Hamid Chergui** et l'équipe de laboratoire de Ibn Tchrine de la wilaya de Blida*

Un remerciement spécial au département de biologie et spécialement à

Mme Hadjadj Dalila

A tous nos enseignants durant nos études et à tous les étudiants de biologie

Dédicaces

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

Je tiens à faire un dédicace exceptionnel pour une personne qui est la plus chère au monde ma mère, qui m'a tellement donné que je n'ai pas assez de mot pour lui exprimer, tout d'abord ma reconnaissance et ma plus profonde tendresse.

Je dédie aussi ce Modeste travail à l'esprit de mon père, qui est l'homme que j'aime le plus au monde et je prie Dieu le tout puissant de le garder au près de nous et de nous donner la santé et la force pour réussir dans la vie

Je tiens aussi à exprimer mes meilleurs sentiments à :

*A mes chers frères : **Amine et Mohamed***

*A ma très chère sœur unique : **Amira***

*A ceux que j'ai de plus chère dans ma vie mon fiancé **Amine** ainsi que ma belle famille*

*A mes tantes **Rafiaa** et surtout **Mahdia** qui ma aidé et leurs mariées et leurs enfants*

*A mon oncle **Hassine** , sa femme et ses enfants*

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

A tous ceux que j'aime et qui m'aiment et à toute la promotion de Master

Dédicace

Je dédie le fruit de mes études à :

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

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

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

*A mes yeux et mon âme mon fils **Racimou** que j'aime*

*A mes très chers frères : **Nour el islam** et **Abd el djalil***

*A mes très chères sœurs : **Bessma** et **Yasmin** et leurs mariées et leurs enfants **Badrou** et **Salsabila** et **Ritadj***

A mes tantes et oncles, ma grande mère, mon grand père, mes cousines, mes cousins, toute ma famille

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

*A toute mes amies, ma famille et surtout **Dalila***

Liste des figures

Figure	Titre	page
Figure 01	Anatomie du foie	04
Figure 02	Structure du virus de l'hépatite B	06
Figure 03	Distribution géographique du HBV dans le monde	06
Figure 04	Structure schématique de la particule virale VHC	11
Figure 05	Organisation génomique du VHC et protéines virales	11
Figure 06	Carte de distribution géographique du VHC dans le monde	11
Figure 07	Répartition des donneurs selon le sexe	29
Figure 08	Distribution des donneurs selon les tranches d'âge	30
Figure 09	Répartition des donneurs en fonction des résultats sérologiques de la technique immuno-enzymatique ELISA Sandwich.	31
Figure 10	Répartition des donneurs en fonction des résultats sérologiques de la technique immuno-enzymatique d'optimisation ELISA	31
Figure 11	Répartition des donneurs séropositifs pour HBs+ selon le sexe	32
Figure 12	Répartition des donneurs séropositifs pour HCV+ selon le sexe	32
Figure 13	Variation de taux phosphatase alcaline chez les donneurs d'Ag Hbs+	33
Figure 14	Variation de taux phosphatase alcaline chez les donneurs d'Ag HCV+	33
Figure 15	Variation de taux la transaminase chez les donneurs d'Ag Hbs+	34
Figure 16	Variation de taux la transaminase chez les donneurs d'Ag HCV+	34
Figure 17	Variation de taux la bilirubine chez les donneurs d'Ag Hbs+	35
Figure 18	Variation de taux la bilirubine chez les donneurs d'Ag HCV+	35

Liste des tableaux

Tableaux : Titre:	page
Tableau I : principales caractéristiques des virus (A, B, C, D, E) d'hépatite virale	05
Tableau II : répartition des donneurs en fonction de sexe	Annexe V
Tableau III : répartition des donneurs selon les tranches d'âge	Annexe V
Tableau IV : répartition des donneurs en fonction de résultat sérologique pour Ag Hbs	Annexe V
Tableau V : répartition des donneurs en fonction de résultat sérologique pour l'hépatite virale C	Annexe V
Tableau VI : répartition des donneurs d'Hbs positif selon le sexe	Annexe V
Tableau VII : répartition des donneurs d'Ac HCV positif selon le sexe	Annexe V
Tableau VIII : variation de taux des phosphatases alcalines chez les donneurs de sang d'Ag Hbs+	Annexe V
Tableau IX : variation de taux des phosphatases alcalines chez les donneurs de sang d'Ac HCV+	Annexe V
Tableau X : variation de taux des transaminases chez les donneurs de sang d'Ag Hbs+	Annexe V
Tableau XI : variation de taux de transaminase chez les donneurs de sang d'Ac HCV+	Annexe V
Tableaux XII : variation de taux de la bilirubine chez les donneurs de sang d'Ag Hbs+	Annexe V
Tableaux XIII : variation de taux de la bilirubine chez les donneurs de sang d'Ac HCV+	Annexe V

Liste des abréviations

Ac Anti HBc	Anticorps anti-protéine *core*
Ac Anti HBe	Anticorps anti-protéine *enveloppe*
Ac Anti HBs	Anticorps anti-protéine de surface
Ag HBe	Antigène d'enveloppe
Ag HBs	Antigène de surface
ALAT	Alanine aminotransférases
ASAT	Aspartate aminotransférases
BD	Bilirubine directe
BT	Bilirubine totale
CGR	Concentré de globule rouge
CHC	Carcinome hépatocellulaire
C.O	Cut-off (valeur seuil)
CP	Concentrées plaquettaires
CTS	Centre de Transfusion Sanguine
ELISA	Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
IFN	Interféron
IST	Interféron Sexuellement Transmissible
LDH	Lactate Déshydrogénase
MDH	Malate Déshydrogénase
NAD⁺	Nicotinamide adénine dinucléotide
OMG	Organisation Mondiale de Gastroentérologie
PAL	Phosphatase Alcaline

PCR	Polymérase Chain Réaction
PFC	Plasma Frais Congelé
PSL	Produit Sanguin Labile
RIA	Radio ImmunoAssays
VHA	Virus de l'Hépatite A
VHB	Virus de l'Hépatite B
VHC	Virus de l'Hépatite C
VHD	Virus de l'Hépatite Delta

Glossaire

- ✚ **Cirrhose** : Maladie chronique du foie provoquée par une altération de ses cellules (Pierre, 2002).
- ✚ **Dépistage** : c'est un examen dont l'objectif est d'identifier rapidement une maladie ou une anomalie et si possible, un stade précoce. (Tebbal et al., 1998)
- ✚ **Fibrose** : transformation de certains tissus en un tissu composé de fibres (Traore, 2005).
- ✚ **Ictère** : coloration jaune de la peau et des muqueuses à cause de l'excès de bilirubine dans le sang (Pierre, 2002).
- ✚ **Stéatose** : c'est-à-dire l'accumulation anormale des graisses dans les cellules hépatiques (Moreau, 2010).

Résumé

Cette étude vise à dépister l'hépatite virale B et C en mesurant la prévalence chez 13.500 donneurs de sang au niveau de centre de transfusion sanguine (CTS) de la wilaya de Blida qui consiste à réaliser des tests immuno-enzymatiques basés sur un système d'agglutination AC-Ag via la recherche de l'Ag HBs et l'Ac HCV à partir d'un sérum humain dont les résultats obtenus pour l'hépatite virale B (31 cas positifs) et l'hépatite virale C (09 cas positifs) en utilisant une technique immuno-enzymatique ELISA (Sandwich et indirecte) recommandée par l'agence nationale du sang sensible et spécifique, et au niveau de laquelle nous avons tenté de remodeler certains paramètres en jouant sur le facteur temps et le facteur température, et serait la technique ELISA optimisée dont le but d'accélérer l'activité enzymatique et donc gagner le temps ; surtout dans les cas d'urgence ou quand le nombre des donneurs est très élevé ce qui donne un avantage au laboratoire. Pour cela nous avons comparé nos résultats obtenus pour les deux techniques pour confirmer la fiabilité.

L'atteinte par l'hépatite virale B et C peut entraîner une perturbation hépatique, pour cela nous avons complété notre étude au laboratoire Ibn Tachine de la wilaya de Blida par le dosage de certains paramètres biochimiques à savoir la phosphatase alcaline, la bilirubine et la transaminase ; les résultats obtenus rapportés par les deux techniques utilisées (Sandwich et indirecte et celle d'optimisation) nous rassurent la fiabilité de la technique optimisée, l'existence des perturbations et une augmentation des taux dans le bilan hépatique.

Les poches de sang issues de donneurs séropositifs sont écartées de la distribution des produits sanguins labiles afin de préserver la santé des receveurs.

Mot clés : Bilan hépatique, Donneurs de sang Hépatite B, ELISA, Hépatite C, Optimisation.

الملخص

هذه الدراسة تهدف إلى الكشف عن فيروس التهاب الكبد B و C عن طريق قياس معدل انتشار هذه الفيروسات بين 13.500 متبرع بالدم بمركز حقن الدم بالبلدية. هذه الدراسة تهدف إلى إجراء اختبارات مناعية أنزيمية تركز على نضام الالتصاق بين جسم مضاد و جسم غريب لكشف فيروس التهاب الكبد B هي (31 حالة ايجابية) و الالتهاب الكبدي C هي (09 حالات ايجابية) مستعملين تقنية مناعية أنزيمية ELISA التي أوصت بها الوكالة الوطنية لنقل الدم و التي تتمثل في تقنيات حساسة و دقيقة. وقمنا بالتغيير في إحدى الإعدادات الحرارة و الوقت هذه التقنية ELISA الأمثل, ربح الوقت, في حالة طارئة أو عندما عدد المتبرعين يفوق العادة. و العمل على مقارنة بين التقنيتين و معرفة التقنية التي هي موثوق و معرفة الجسم المضاد و الجسم الغريب و هل نحصل على نفس النتيجة.

يمكن للإصابة بالالتهاب الكبد الفيروسي B و C أن تسبب اضطراب في اختبارات وظائف الكبد و لهذا عملنا دراسة تكميلية بمختبر ابن تشرين بالبلدية بمعايرة نشاط الإنزيمات التالية فوسفاتاز الكلين و ترنز اميناز و بليروبين و النتائج المتحصل عليها سمحت لنا ان لمقارنة التقنيتين هي نفسها وملاحظة وجود اضطرابات في التحاليل الكبدية و تزايد في نسبة هذه الإنزيمات في التحاليل الكبدية .

الكلمات الأساسية : التهاب الكبد , B, التهاب الكبد , C, متبرعين الدم, Elisa, optimisation, تحاليل كبدية.

summary

This study aimed to screen for viral hepatitis B and C by measuring the prevalence of 13,500 blood donors at the blood transfusion center (CTS) in Blida. This study consisted of enzyme-linked immunosorbent assay agglutination of AC-Ag via HBsAg and HCV Ac from human serum, the results of which for viral hepatitis B (31 positive cases) and viral hepatitis C (09 positive cases) using an enzyme-linked ELISA Sandwich technique recommended by the national agency of sensitive and specific blood, and we tried to review some parameters of this technique play on the time factor and temperature, ELISA optimization for purpose: speed; saves time; in case of emergency or the number of donors enormous, or the case of the automaton inoperative or a lack of reagents, gives more advantage to the laboratory, to allow a comparative study between the two methods to know the most reliable for detection of Ag and Ac and whether the same results are obtained.

Infection with viral hepatitis B and C can lead to hepatic disturbance. This is why we completed our study in the ibn techrine laboratory of Blida by biochemical parameters, namely alkaline phosphatase, bilirubin and transaminase ; the results obtained allowed us to note the existence of disturbances and an increase of the rates in the liver balance.

Blood pockets from seropositive donors are excluded from the distribution of labile blood products in order to preserve the health of the recipients.

Key words: hepatitis B, hepatitis C, blood donors, ELISA, optimization, liver function tests.

sommaire

Introduction	1
Chapitre I : Rappels bibliographiques	
I-1-Sang et transfusion sanguine	2
I-1-1-Sang.....	2
I-1-2-Transfusion sanguine.....	2
I-1-2-1- Produit sanguin labiles.....	2
I-1-2-2-Risques.....	2
I-1-2-3-Contrôles	3
I-2- Anatom- physiologie du foie	3
I-2-1- Anatomie.....	4
I-2-2- Physiopathologie.....	4
I-3- Hépatite virales	4
I-3-1- Hépatite virale B.....	6
I-3-2- Hépatite virale C	11
I-4- Tests de dépistage des hépatites virales B et C	15
I-4-1- Dosage radio-immunologique (RIA).....	15
I-4-2-Hémagglutination	15
I-4-3- Dosage immuno-enzymatique	15
I 5- Tests biochimiques complémentaires	15
I-5-1- transaminases.....	16
I-5-2-phosphatase alcaline.....	16
I-5-3- bilirubine.....	16
Chapitre II : Matériel et Méthodes	
I-1-Population étudiée.....	17
I-2-Questionnaire.....	17
I-3-Echantillonnage.....	17
I-4- Matériel non biologique.....	17
II-Méthodes.....	18
II-1- Méthode de prélèvement sanguin.....	18
II-2-Traitement des échantillons.....	19

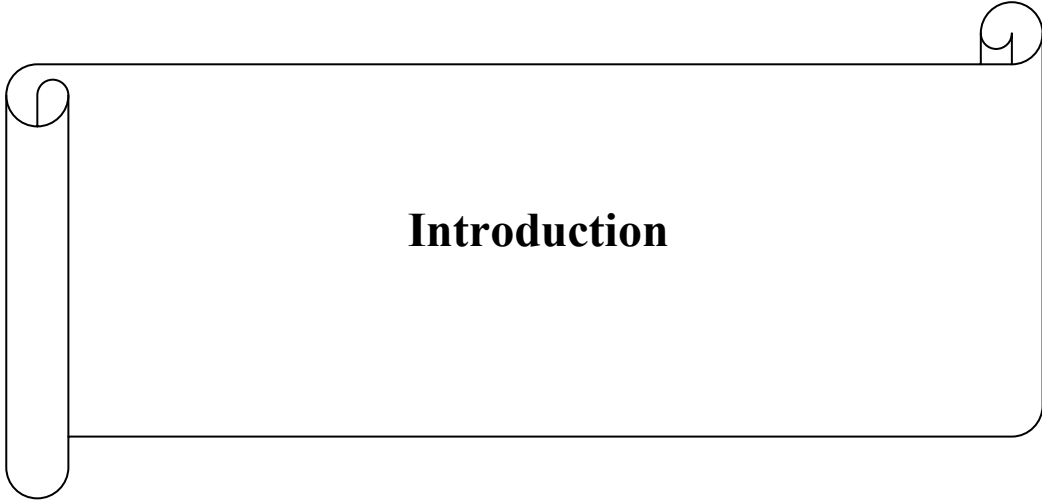
II-3-Technique de dépistage de l'hépatite virale B.....	19
II-4-Technique de dépistage de l'hépatite virale C	20
II-5-Technique ELISA optimisée	22
II-6- Tests biochimiques complémentaires.....	24

Chapitre III : Résultats et Discussion

III- Résultats sérologiques.....	29
III-1-1- Répartition des donneurs en fonction des sexes.....	29
III-1-2- Répartition des donneurs selon les tranches d'âge.....	30
III-1-3-Répartition des donneurs en fonction des résultats sérologiques.....	31
III-1-4- Répartition des donneurs séropositifs pour HBV et HCV selon les sexes.....	32
III-2-Résultats biochimiques.....	33
III-2-1- Variation des taux des phosphatases alcalines chez les donneurs.....	33
III-2-2-Variation des taux de Bilirubine (Directe et Totale) chez les donneurs.....	34
III-2-3- Variation des taux des transaminases chez les donneurs.....	35
Conclusion.....	37

Références bibliographiques

Annexes



Introduction

Introduction

Depuis longtemps, l'être humain sait que le sang est la vie, et que la perte d'une quantité de sang, entraîne la mort ; mais ils ne savaient pas remplacer le sang perdu. Le traitement de ces pertes est résolu par la transfusion sanguine qui est avant tout une discipline médicale dont la particularité de traiter l'homme par l'homme , un sujet sain et volontaire, le donneur , constitue la source de traitement d'un malade, qui est le receveur (**Lehot et Ricaud ,2010**).

Selon l'**OMS** Une hépatite, c'est une inflammation du foie due à un élément toxique comme l'alcool, certains médicaments ou à un virus comme HBs et HCV, on estime que 170 millions de personnes ont une infection chronique par HCV dans le monde, et que 3 à 4 millions de personnes sont nouvellement infectées chaque année.

En Algérie, environ 5% de personnes sont atteintes d'hépatites virales B et C (**Anonyme, 2005**).

L'hépatite virale B et C sont des maladies graves, elles comportent habituellement une phase aiguë qui est quelque fois poursuivie par une phase chronique, les maladies se ressemblent cliniquement et peuvent seulement être différenciées par des tests de laboratoire (**Schaechter et al., 1999**).

Dans cette optique s'inscrit notre travail qui vise à répondre à notre problématique suivante :

Si on optimise la technique ELISA Sandwich, par augmentation de la température à (56°C) ainsi que la réduction du temps d'incubation (par deux) .Peut-on avoir les mêmes résultats sérologiques dans le cas d'hépatite virale B et C obtenus par la technique immunoenzymatique ELISA Sandwich conventionnelle. Pour répondre à notre question nous avons tracé les objectifs suivants :

-Dépistage des cas de l'hépatite B et C à partir de 13.500 donneurs au niveau du centre de transfusion sanguine (CTS) de la wilaya de Blida, par la technique ELISA Sandwich et la technique ELISA optimisée dans les cas séropositifs.

-Réalisation d'un bilan hépatique dans les cas séropositifs de l'hépatite virale B et C au niveau de l'hôpital Ibn Tchrine de la wilaya de Blida à savoir la phosphatase alcaline, la bilirubine, la transaminase, afin d'écarter les personnes séropositives et d'assurer la sécurité transfusionnelle.



Chapitre I :
Partie bibliographique

I-Etude bibliographique :

I-1- Sang et transfusion sanguine :

I-1-1-Sang : Le sang est une suspension de cellules dans un liquide complexe : le plasma, celui-ci est constitué lui-même d'eau, de sels minéraux et de molécules organiques. Après coagulation, le plasma dépourvu de fibrinogène constitue le sérum.

Les cellules, que l'on peut séparer par centrifugation, appartiennent à trois catégories **(Levy ; 2001) :**

- -les globules rouges (érythrocytes ou hématies)
- -les globules blancs (leucocytes)
- -les plaquettes (thrombocytes)

I-1-2- Transfusion sanguine : Une transfusion sanguine est une opération consistant à injecter par perfusion intraveineuse un produit sanguin labile(PSL) **(Siegenthaler et Bosman, 2008).**

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

I-1-2-1-Produits sanguins labiles : Les produits sanguins labiles (PSL) sont obtenus à partir d'un don de sang total, dont la séparation permet d'obtenir des concentrés de globule rouge (CGR), des concentrés plaquettaires(CP) et de plasma congelé(PFC) **(Levy, 2001).**

I-1-2-2- Risques : La transfusion sanguine peut entraîner dans certains cas des accidents qui peuvent être immunitaires et infectieux :

A / accidents immunitaires :

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

Si le groupe sanguin est incompatible alors l'accident peut être mortel. Grâce aux technologies modernes et à l'analyse des groupes sanguins, ces accidents arrivent

rarement. De ce fait, la transfusion sanguine est à 98% sur les 2% restant proviendrait d'une réaction (frisson- fièvre), incidents courts et bénins (**Malraux, 2008**).

B/ Accidents infectieux :

Un accident infectieux peut intervenir par :

- Une contamination bactérienne du produit (sang, plaquettes, plasma) transférés aujourd'hui ce type d'accident est très rare. Les conservations de sangs sont rigoureuses pour éviter ce problème. Cependant, quand cet accident se produit, il peut être mortel. Ces bactéries peuvent provenir d'une infection de la peau, d'une aiguille ou du matériel lors de la ponction veineuse.
- Le risque viral, aujourd'hui a nettement diminué grâce aux interrogatoires et analyses de sang qui n'acceptent pas le sang des (donneurs à risque) ainsi que le traitement du sang recueilli. Le risque viral peut contaminer le patient de maladie tel que les hépatites virales, HCV, HBV et HIV (**Malraux, 2008**)

I-1-2-3- Contrôles :

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

I-2- Anatom- physiopathologique du foie :

I-2-1-Anatomie : Le foie est l'organe le plus volumineux de l'organisme et le seul capable d'une régénération en masse (**Denis, 1991 ;Hadjiky et al., 2000**). Il est divisé en deux gros lobes, un grand lobe hépatique droit et un plus petit lobe hépatique gauche (**Schaffler et Schidi, 1999**). Le foie a une structure essentiellement cellulaire, le parenchyme hépatique est organisé autour d'un réseau vasculaire complexe et entrecoupé par les canaux biliaires (**Hadjiky et al., 2000**).

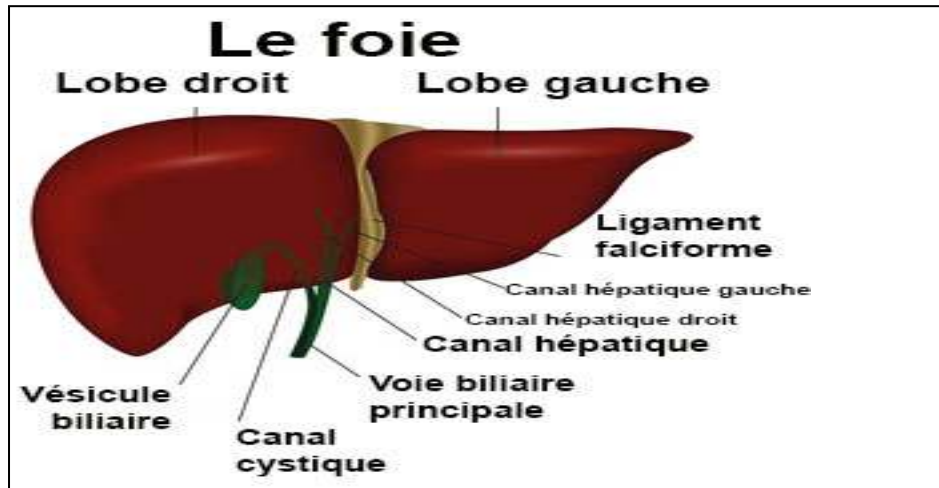


Figure 01 : Anatomie du foie (couinaud, 1957)

I-2-2-Physiopathologie : Les maladies du foie affectent des personnes de tout âge. Certaines sont fréquentes comme la stéatose, l'hépatite (B et C) alors que d'autres sont rares comme la cirrhose biliaire primitive (due à une atteinte auto-immune des voies biliaires) ou certaines maladies génétiques (Moreau, 2010).

I-3- Hépatite virales : Cinq virus sont des agents spécifiques d'hépatites, et leurs principales caractéristiques sont représentées dans le tableau suivant :

Tableau I : Principales caractéristiques des virus de l'hépatite virale :

virus	A	B	C	D	E
caractéristique					
famille	picornaviridae	hépadnaviridea	Flaviridea outgaviridae	Apparent Aux viroides	caliciviridea
Génome	ARN	ADN	ARN	ARN	ARN
Enveloppe	-	+	+	+	-

Contamination	enterale	parenterale	parenterale	parenterale	enterale
Risque transfusionnel	-	+	+	+	-
Hépatite fulminante	-	+	+	+	+
Hépatite chronique	-	+	++	+	-
Thérapeutique anti virale	-	Vidarabine IFN	IFN	-	-
Prévention par vaccination	+	+	-	+	-

+ : présence, - : absence, IFN : Interféron (Crainic et Nicolas, 1993).

I-3-1- Hépatite virale B :

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

I-3-1-1- Structure virale :

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

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

✓ Génome virale :

C'est une petite molécule d'ADN (le plus petit génome des virus à ADN) (Thibault, 2001), de 3200 paires de base. Ce génome est circulaire partiellement

bicaténaire (**Figure 02**), il code pour des protéines virales distinctes (**Zoulime et al., 2006**).

A- Protéines de l'enveloppe :

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

- **Petite protéine :** codée par la région S, représente la protéine majeure (80%).
- **Protéine moyenne :** codée par la région pré S+ S, la moins abondante.
- **Grande protéine :** codée par la région pré S1 +pré S2 + S.

B- Protéine de la capside (core) :

On distingue 2 types de protéines de la capside (**Segondy, 2005**)(**Figure 02**) :

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

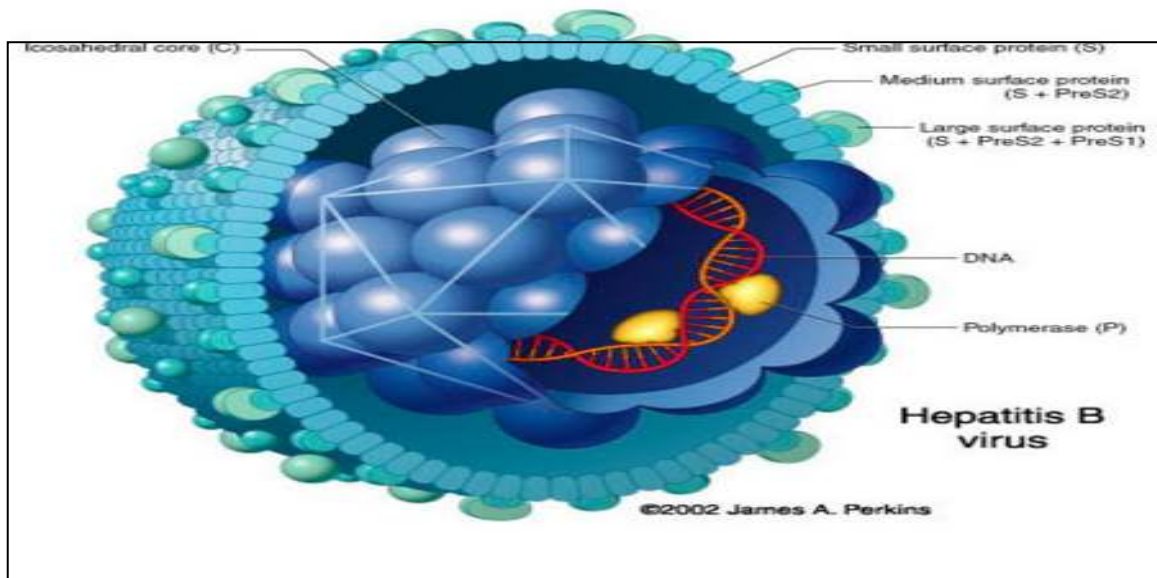


Figure02 : Structure du virus de l'hépatite B (**Goffard, 2012**)

I-3-1-2-Epidémiologie :

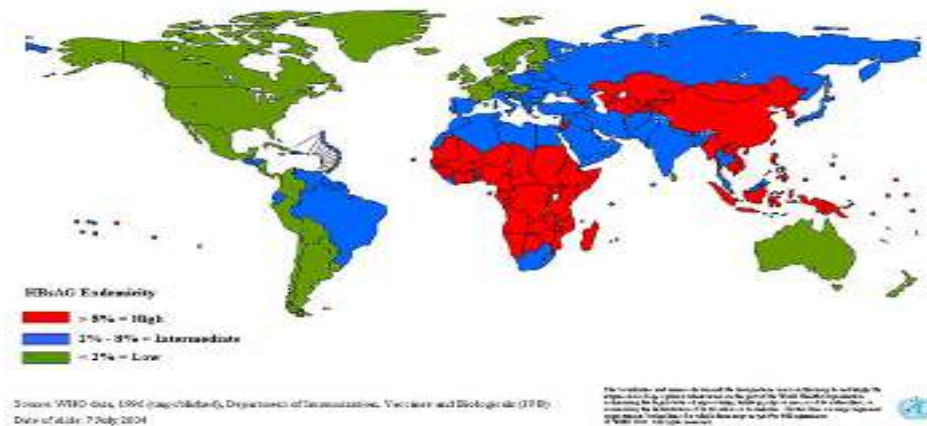


Figure03 : Distribution géographique du HBV dans le monde (**Charlotte, 2009**).

L'hépatite B est une maladie infectieuse grave, extrêmement contagieuse, qui provoque plus de 600 000 décès par an dans le monde (**Goldstein et al., 2005**)

On estime à environ 375 millions le nombre de porteurs chroniques du VBH (**Maurin, 1984**).

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

- Pour une de forte endémie**, 8 à 20% de la population présente une infection chronique.
- **Dans les zones de moyenne endémie**, 2à 8 % de la population présente une infection chronique.
- **Et pour les zones de faible endémie**, moins de 2 % de la population présente une infection chronique (**Villeneuve, 2012**).

I-3-1-3-Mode de transmission :

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

A-Transmission à risque élevé :

❖ Transmission parentérale :

Le VBH peut se transmettre par transfusion sanguine, accident par pique ou infection avec du matériel non stérile (**Seigneurin et Morand, 1997**).

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

-des injections administrées avec des aiguilles ou des seringues réutilisées sans stérilisation

-l'administration de produits sanguins dans les pays où aucun dépistage de l'AgHBs n'est pratiqué sur les dons de sang (**Franchis et Marcellin, 2003**).

-la chirurgie, soins dentaires, hémodialyse, le risque professionnel (ce mode de transmission peut toucher le personnel soignant, lors d'accident d'exposition au sang) (**Catrice, 2009**).

❖ **Transmission sexuelle :**

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

❖ **Transmission périnatale :**

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

B-Transmission à faible risque :

❖ **Transmission horizontale :**

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

C – Transmission à risque nul :

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

I-3-1-4-Clinique de l'hépatite virale B :

Le VBH est responsable d'infection aiguës, d'hépatite chronique et parfois évolue vers la cirrhose et le cancer du foie (**Liaw et Chu, 2009**).

A- Hépatite aiguë à VHB :

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

- **Une forme asymptomatique ou antictérique** dans 70% des cas environ
- **Une forme symptomatique** dans 30% des cas environ
- **Une forme fulminante** : 1 à 2% des cas environ

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

B-Hépatite chronique à VBH :

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

Les porteurs inactifs : sont définis par des transaminases normales pendant 1 an, un ADN viral indétectable (inférieur au seuil de significativité), Ag HBs positif et Ac Anti HBs négatif (**Catrice, 2009**).

Il est important de vérifier l'absence de signe clinique, biologique ou échographique de fibrose hépatique évoluée ou de cirrhose chez ces patients (**Asselah et al., 2008**). Des réactivations peuvent survenir chez ces patients, avec une réapparition de l'ADN viral dans le sérum. Ils doivent donc être surveillés annuellement et à vie (**Levy et al., 1990 ;Gayon et Mercellin, 1992**).

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

C –Evolution de l'infection par le VBH :

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

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

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

I-3-1-5-Traitement et prévention :

Il n'existe pas de médicaments permettant de traiter une hépatite aigue pour améliorer les chances de guérison (**Goffard, 2012**), le traitement des hépatites chroniques virales repose essentiellement sur l'interféron alpha (**Marcellin, 2004**), Pour but d'arrêter la réplication virale (**Catrice, 2009**), afin de prévenir l'évolution vers la cirrhose et le carcinome hépatocellulaire (**Vochelle et al., 2007**) , on obtient une réponse virologique (disparition de L'ADN viral, disparition HBeAg) dans environ 40% des cas, avec normalisation des transaminases et amélioration histologique (**Segondy, 2005**).La prévention repose sur la vaccination avec de l'antigène HBs purifié du sang de sujets porteurs chroniques ou obtenu par recombinaison génétique (**Fleury, 1993**), Il faut vacciner le personnel de santé, les personnes à risques (hémodialysés, greffés, toxicomanes, personnes à partenaires sexuels multiples) nouveau-nés de mères AgHBs⁺ (**Goffard, 2012**).

I-3-2-Hépatite virale C :

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

I-3-2-1-Structure virale :

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

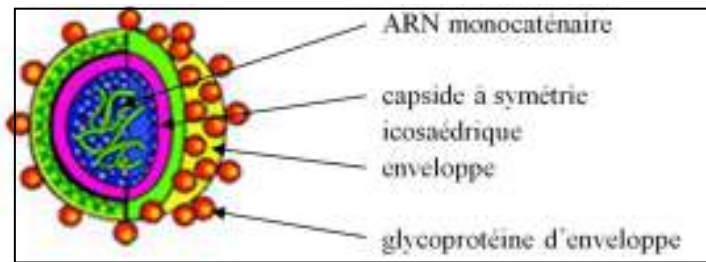


Figure 04 : structure schématique de la particule virale VHC (Paul et Dominique, 2003)

➤ **Génome viral :**

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

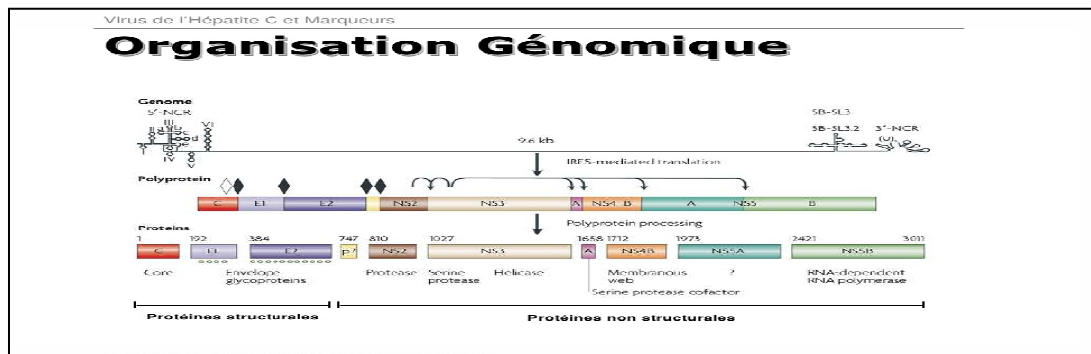


Figure 05 : Organisation génomique du VHC et protéines virales (Roingard et al., 2004).

I-3-2-2- Epidémiologie :

Depuis la mise au point des moyens de dépistage du VHC, des études prospectives et même rétrospectives ont permis d'étudier le virus dans l'espace (Esteba et al., 1990 ; Kew et al., 1990). On sait aujourd'hui que le virus ubiquitaire, a une prédominance dans certains pays industrialisés (Snou et al., 1992). La prévalence moyenne du VHC dans le monde est de 3% (soit 170 million de personnes infectées) (Traore, 2005).

caractérisé par un ictère, une asthénie, des nausées, des vomissements, des myalgies, de la fièvre et des douleurs de l'hypocondre droit (**Grando et Trinchet, 2003**).

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

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

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

I-3-2-5- Traitement :

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

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

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

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

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

I-4- tests de dépistage des hépatites virales B et C :

I-4-1-Dosage radio-immunologique (RIA) :

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

I-4-2- H'émagglutination :

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

I-4-3- Dosage immuno-enzymatique :

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

Cette méthode comporte 03 types :

- ✓ ELISA sandwich.
- ✓ ELISA indirecte.
- ✓ ELISA compétitive

I-5-Tests biochimiques complémentaires :

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

- ✓ Les transaminases (ALAT et ASAT).
- ✓ Les phosphatases alcalines (PAL).
- ✓ La bilirubine.

I-5-1 – Les transaminases :

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

❖ **L'alanine amino transférase (ALAT)**, anciennement dénommée Sérum Glutamo-pyruvique Transférase (TGP), est d'origine essentiellement hépatique accessoirement musculaire.

❖ **L'aspartateaminotrasférase (ASAT)** : anciennement dénommée Sérum Glutamo-Oxaloacétate Transférase (TGO), est trouvée dans le myocarde, les muscles, les reins, le cerveau et le également le foie.

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

I-5-2 – Phosphatase alcaline (PAL) :

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

I-5-3 – La Bilirubine :

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

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



Chapitre II :
Matériel et Méthodes

Chapitre II : Matériel et méthode :

Notre stage de Master a été réalisé au niveau de centre de transfusion sanguine (CTS) de la wilaya de Blida durant une période de cinq mois (du Janvier au Mai 2017) consiste de dépister l'agent infectieux de l'hépatite viral B et C afin d'avoir un échantillonnage significatif, nous avons estimé 13.500 donneurs de sang qui ont été analysés, durant notre stage devant ce chiffre exagéré, nous avons tenté les techniques ELISA optimisée en augmentant la température et en divisant le facteur temps sur deux pour but : gagner de temps, en cas d'urgence, ou le nombre des donneurs est très important est enfin si l'automate est en panne ou il y a un manque de réactifs ; ce qui donne un avantage au laboratoire, pour cela nous avons comparé nos résultats obtenus par les techniques (sandwich, indirecte, et optimisée) pour confirmer leur fiabilité.

- **I-1-Population étudiée :** Dans notre étude l'ensemble des donneurs doivent répondre aux critères d'inclusion :

- ✓ Bénévoles
- ✓ Adultes (âge compris entre 18 et 65 ans).
- ✓ Sujets sains (ne présentant pas de contre-indications médicales).
- ✓ Tension artérielle (11/8 – 16/9).
- ✓ Poids corporel (supérieur à 50 Kg).

I-2-Questionnaire :

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

I-3- Echantillonnage :

Des prélèvements sanguins de 13.500 donneurs ont été récoltés dans des poches de sang ; les donneurs âgés entre 18 ans et 65 ans ; 8.800 de sexe masculin et 4.700 de sexe féminin.

I-4-Matériel non biologique :

L'ensemble des réactifs et l'appareillage, le matériel consommable de laboratoire et sont cités dans les annexes II.

II- Méthodes :

II-1-Méthode de prélèvement sanguin :

La collecte du sang est réalisée au niveau du centre de transfusion sanguine fixe ou mobile. La fréquence des prélèvements ne doit pas être supérieure à 5 fois par an pour les hommes et 3 fois an pour les femmes, avec un intervalle de 4 mois pour chaque don, La quantité du sang prélevée ne doit pas être supérieure à 450 ml. Le prélèvement a été effectué pour chaque donneur après un léger repas, dans des poches de sang.

- ✓ Désinfecter la zone de phlébotomie à l'aide d'un coton alcoolisé.
- ✓ Placer la poche du sang sur l'agitateur.
- ✓ Le prélèvement doit se faire au niveau de la veine de l'avant bras.
- ✓ Placer le garrot sur le bras du donneur puis laisser sécher.
- ✓ Introduire l'aiguille.
- ✓ Demander au donneur d'ouvrir et de fermer la main pour augmenter le débit sanguin.
- ✓ Une fois terminée retirer le garrot puis l'aiguille et bien serrer l'anneau de la tubulure de la poche.
- ✓ Couper la tubulure au dessus de nœud et remplir deux tubes : sec pour la sérologie et citrate pour le groupage.
- ✓ La poche contenant le sang total d'un donneur bénévole contient une quantité maximale de 400 ml prélevé sur une quantité de solution anti coagulant environ 60 ml. Les solutions utilisées généralement sont :
 - ACD : acide citrate dextrose.
 - CPDA : citrate phosphate dextrose adénine.
- ✓ A l'aide d'une centrifugeuse, la poche (poche triple) de sang total sert à préparer les concentrés érythrocytaires, concentrés plaquettaires et plasma frais congelé (dans les six heures qui suit le prélèvement).
- ✓ L'unité du sang prélevé doit porter les renseignements suivants :

- Nom et prénom.
- L'âge et l'adresse du donneur.
- Date de prélèvement et de péremption du sang.
- Groupe sanguin et numéro de la poche.
- La conservation dans la banque du sang à température + 4 C°.

II-2- Traitement des échantillons :

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

II-3- Technique de dépistage de l'hépatite virale B :

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

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

II-3-1- Principe ELISA Sandwich :

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

II-3-2-Mode opératoire :

- ✓ Préparation de la solution de lavage : dilution de 1/20 de solution de lavage dans l'eau distillée.

- ✓ Mettre 100 µl de contrôle négatif dans les cupules A1, B1, et 100 µl de contrôle positif dans les cupules C1, D1. et 100 µl de plasma des échantillons dans les autres cupules.
- ✓ Distribuer 50 µl de conjugué dans chaque cupules par la solution de lavage diluée.
- ✓ Recouvrir la microplaque par un film adhésif est incubé pendant 1 heure (h) à 37°C.
- ✓ Effectuer un lavage de 5 fois. Après incubation.
- ✓ Ajouter 50 µl de substrat « hydrogène de peroxyde » puis 50 µl de substrat « tétraméthylebenzoïque » dans chaque cupule.
- ✓ Recouvrir par un film adhésif et incubé pendant 15 minutes (mn) à 37°C.
- ✓ Après incubation, ajouter 50 µL de solution d'arrêt (l'acide sulfurique) dans chaque cupule.
- ✓ Après 10 mn, lecture la densité optique de chaque cupule à 450 nm.

II-3-4- Calcul et interprétation des résultats :

➤ Calcul de la valeur seuil ou Cut-off :

La C.O est calculé selon la formule suivante :

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

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

➤ Interprétation des résultats :

Les échantillons dont la densité optique (DO) est :

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

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

II-4- Technique de dépistage de l'hépatite virale C :

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

II-4-1- Principe d'ELISA indirect :

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

II-4-2- Composition de coffret BIOLOGIX HCV anti body EIA Test Kit :

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

II-4-3- Mode opératoire :

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

- ✓ Lire la densité optique (DO) à la longueur d'onde 450 nm.

Note : La DO doit se lire dans les 30 min qui suivent l'addition de solution d'arrêt.

II-4-4 Calcul et interprétation des résultats :

Calcule de valeur seuil ou Cut-off :

La C.O est calculée selon la formule suivante :

$$\text{Cut-off(c.o)} = \text{NCx} + 0.145$$

NCx : la moyenne de la DO des 2 contrôles négatifs.

Interprétation des résultats :

Les échantillons dont la densité optique (DO) est :

- ✓ Inférieure à la C.O : sont considérés comme des résultats négatifs donc ne contiennent pas l'AC HCV.
- ✓ Supérieure ou égale à la C.O : le test doit se refaire deux ou trois fois. Après répétitions du test, si l'absorbance est inférieure à la c.o le résultat initial est non reproductible et l'échantillon est déclaré négatif,
Si l'absorbance est toujours supérieure ou égale à la c.o, l'échantillon est déclaré positif donc il contient l'Ac HCV ou il ya un facteur de réaction non spécifique.
Dans le cas des résultats positifs sont confirmés par la technique PCR au niveau de l'institut pasteur.

I-5- Technique Elisa optimisée :

Principe générale :

Les techniques immuno-enzymatiques sont des techniques appliquées à la recherche d'Ag ou d'Ac dans le plasma ou le sérum humain. L'Ag ou l'Ac recherché va entrer en réaction avec respectivement, l'Ac ou l'Ag fixé sur la phase solide (cupule de la microplaque) la réaction Ag-Ac est détectée par l'addition d'un conjugué, Ac ou Ag sur lequel est fixé un enzyme. La présence de l'enzyme conjugué (fixé sur le complexe Ag-Ac) est révélée par un substrat qui passe d'une phase non colorée à une phase colorée comme suite à une catalyse par cette enzyme avec l'augmentation de la température et

division le facteur de temps en deux anne ou un manque du réactifs. La densité optique (DO) de la solution est mesurée par un spectrophotomètre ou un fluor-mètre selon le type de réaction.

I-5-1- Mode opératoire :

- ✓ Préparation de solution de lavage.
- ✓ Mettre 100 µl de diluant dans toutes les cupules.
- ✓ Distribuer 10 µl de contrôle négatif dans les cupules A1, B1, 10 µl de contrôle positif dans les cupules C1, D1 et 10 µl de plasma dans les autres cupules.
- ✓ Recouvrir la microplaque par un film adhésif et incuber pendant **15 min à 56°C.**
- ✓ Effectuer un lavage de 05 fois par la solution de lavage. Après incubation,
- ✓ Ajoute 100 µl d'AC conjugué dans chaque cupule.
- ✓ Recouvrir la microplaque par un film adhésif et incuber pendant **15 min à 56°C.**
- ✓ Répéter le lavage 5 fois par la solution de lavage.
- ✓ Distribuer 50 µl de substrat « A » et 50 µl de substrat « B » dans chaque cupule.
- ✓ Recouvrir par un film adhésif et incuber pendant **7 min à 56°C.**
- ✓ Ajouter 50 µl de solution d'arrêt dans chaque cupule.
- ✓ Lire la densité optique (DO) à la longueur d'onde 450 nm.

Note : La DO doit se lire dans les 30 min qui suivent l'addition de solution d'arrêt.

II-5-2- Calcul et interprétation des résultats :

Calcul de valeur seuil ou Cut-off :

La C.O est calculée selon la formule suivante :

$$\text{Cut-off (c.o)} = \text{NCx} + 0.145$$

NCx : la moyenne de la DO des 2 contrôles négatifs.

Interprétation des résultats :

Les échantillons dont la densité optique (DO) est :

- ✓ Inférieure à la C.O : sont considérés comme des résultats négatifs donc ne contiennent pas l'AC HCV.
- ✓ Supérieure ou égale à la C.O : le test doit se refaire deux ou trois fois. Après répétitions du test, si l'absorbance est inférieure à la c.o le résultat initiale est non reproductible et l'échantillon est déclaré négatif,
Si l'absorbance est toujours supérieure ou égale à la c.o, l'échantillon est déclaré positif donc soit contient l'Ac HCV ou il ya un facteur de réaction non spécifique.
Dans le cas des résultats positifs est confirmé par la technique PCR au niveau de l'institut pasteur.

I-6-Tests biochimiques hépatiques complémentaires :

Nous avons réalisé notre étude biochimique qui consiste à la réalisation du bilan hépatique au niveau de l'hôpital Ibn Techrine de la wilaya de Blida dans le laboratoire central

Les échantillons ont été prélevés chez les donneurs de sang séropositif par VHB et HCV de CTS

Objectifs : notre travail consiste à réaliser le dosage de certaines enzymes et autres paramètres biologiques hépatiques en relation avec les hépatites :

- ✓ **Phosphatase alcaline (PAL)**
- ✓ **Transaminase (ASAT -ALAT)**
- ✓ **La bilirubine (totale et directe)**

I-6-1- Echantillonnage :

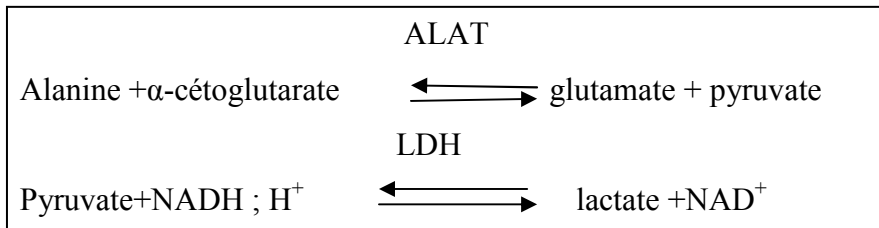
Le sérum de malade (porteur de l'Ag Hbs et l'Ac HCV) est récupéré dans des tubes secs après avoir effectué les tests sérologiques sur lesquels nous avons réalisés le dosage des paramètres biochimiques hépatiques nécessaires à doser.

I-6-2 Bilan hépatique :

A. Dosage des transaminases :

ALAT (GPT) : Alanine aminotransférase catalyse le transfert réversible du groupement amine (NH₂) de l'alanine sur α - céto glutarate pour former le glutamate et le

pyruvate. Le pyruvate produit est réduit en lactate par le lactate déshydrogénase (LDH) en présence du NADH :



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

Mode opératoire :

1-Condition du lecteur :

- Épaisseur de la cuve : 1 cm
- Température : 37° C

2 -Régler le zéro de l'instrument sur l'eau distillée

3- Introduire dans des tubes à essais :

- Réactif du travail 1ml
- Echantillon 100 μ l

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

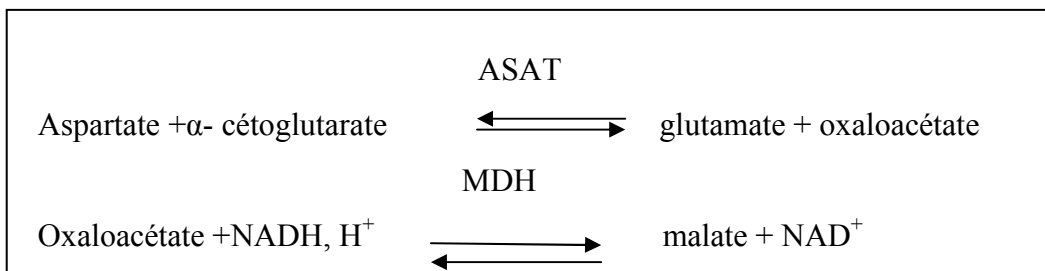
5- Lire l'absorbance initiale (A) de l'échantillon, puis lire l'absorbance à 1min puis à 3 min.

Calculs :

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

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

- **ASAT (GOT) :** l'Aspartate aminotransférase catalyse le transfert réversible du groupement amine NH₂ de l'aspartate sur α -cétoglutarate pour former le glutamate et l'oxaloacétate ; l'oxaloacétate produit est réduite en malate par le malate déshydrogénase (MDH) et NADH.



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

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

Mode opératoire :

1- Condition du lecteur :

- Epaisseur de la cuve 1cm
- Température 37°C

2- Régler le zéro de l'instrument sur l'eau distillée.

3- Introduire dans des tubes à essais :

Réactif du travail 1 ml

Echantillon 100µl

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

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

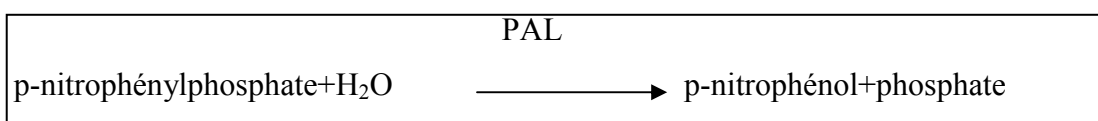
Calculs :

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

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

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

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



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

Mode opératoire :

1-Conditions de lecteur :

Epaisseur de la cuve 1cm

Température 37°C

2-Régler le zéro de l'instrument sur l'eau distillée

3-Introduire dans des tubes à essais :

Réactif du travail 1.2ml

Echantillon 20µl

4- Agiter, incuber pendant 1 min

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

Calculs :

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

Valeurs de références :

Adulte : 98-279 UI/L

C-Dosage de la Bilirubine Totale et Directe : la bilirubine directe présente dans l'échantillon réagit avec l'acide sulfanilique diazoïque pour donner un complexe coloré qui peut être quantifié par spectrophotométrie.

Le diméthylsulfoxyde(DMSO) solubilise la bilirubine indirecte, en permettant ainsi sa réaction en même temps que la fraction directe. Les termes « directe et totale» se rapportent aux caractéristiques de réaction en présence ou l'absence de solubilisant (l'accélérateur). La bilirubine «directe et indirecte» équivalente seulement d'une manière approximative, aux fractions conjuguée et non conjuguée.

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

Mode opératoire :

1-Conditions du lecteur :

Longueur d'onde 540nm

Epaisseur de la cuve 1 cm

Température 15-25 °C

2- Régler le zéro de l'instrument sur l'eau distillée.

3- Introduire dans une cuvette :

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

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

5-Lire l'absorbance (A)

Calculs :

Le calcul du taux de la bilirubine comme suit :

Bilirubine (mg/dl) = (Abs Echant. – Abs Echant. Blanc) × facteur

Facteur théorique : Bilirubine totale : 19,1

Bilirubine directe : 14

Facteur de conversion : mg/dl × 17,1 = µmol/l

Valeur de référence : Bilirubine Total = 1,10mg/dl ≈ 18.81 µmol/l Bilirubine

Directe = 0.25 mg/dl ≈ 4.25 µmol/l

A decorative border resembling a scroll, with a vertical strip on the left and a horizontal strip at the top, both ending in small loops.

Chapitre III :
Résultats et Discussion

Chapitre III : Résultats et Discussions

III-1-Résultats sérologiques :

Au cours de notre stage pratique, basé sur le dépistage de l'hépatite virale B et C chez 13.500 donneurs de sang dont 8.800 Hommes et 4.700 Femmes dans la tranche d'âge comprise entre 18 et 65 ans et par des techniques immuno-enzymatique ELISA Sandwich et indirecte et aussi par la technique ELISA optimisée suivie par des analyses biochimiques hépatiques complémentaires sur les séropositives nous a permis d'avoir les résultats suivants :

III-1-1-Répartition des donneurs en fonction du sexe :

La répartition des donneurs en fonction du sexe est présentée dans la figure 7 et le tableau II (Annexe V)

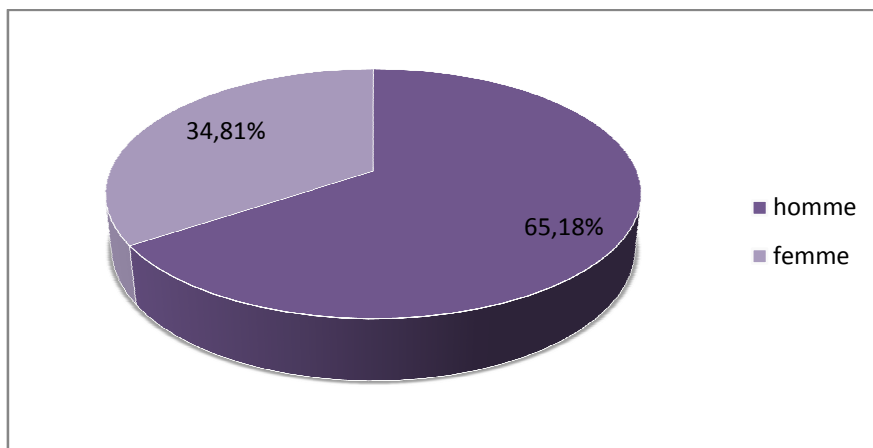


Figure 07 : Répartition des donneurs selon le sexe.

D'après la présentation graphique des donneurs du sang en fonction du sexe ; on remarque une prédominance masculine avec (65.18%) contre (34.81) de sexe féminin (Figure 07).

Cette prédominance masculine a été aussi retrouvée dans l'étude de **Dembélé (1999)**, **Guindo(2003)** et **Tangara (2004)** qui ont signalé que les donneurs sont majoritairement de sexe masculin. Ceci pourrait être lié aux conditions socioculturelles de notre pays et aussi probablement aux multiples contre indications au don de sang chez les femmes (allaitement, menstruation et gestation).

III-1-2-Répartition des donneurs selon les tranches d'âge :

La répartition des donneurs selon les tranches d'âge est représentée dans la figure 8 et le tableau III (annexe V)

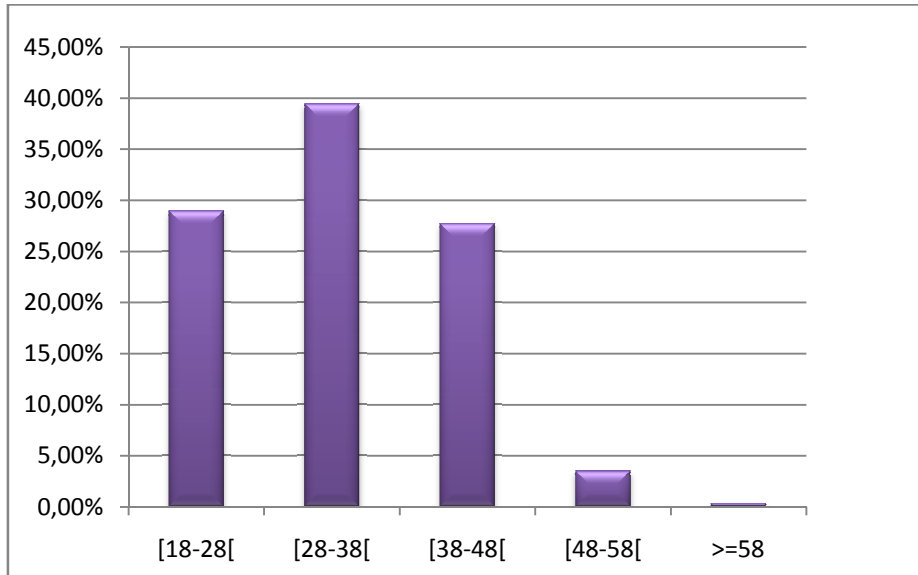


Figure 08 : Distribution des donneurs selon les tranches d'âge.

d'après notre histogramme le pourcentage des donneurs le plus élevé (39.44%) se situe dans la tranche d'âge [28-38[ans ; suivie de (28.96%) et (27.73%) dans les tranches d'âge [18-28[et [38-48[ans .pour la tranche d'âge de [48-58[ans le pourcentage des donneurs est faible (3.52%) , alors que les donneurs plus de 58 ans sont rares (0.35 %)

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

III-1-3- Répartition des donneurs en fonction des résultats sérologiques par la technique immuno-enzymatique ELISA Sandwich et la technique ELISA optimisée:

La répartition des donneurs en fonction des résultats sérologique est représentée dans les figures 09,10 et les tableaux IV et V respectivement (Annexes V)

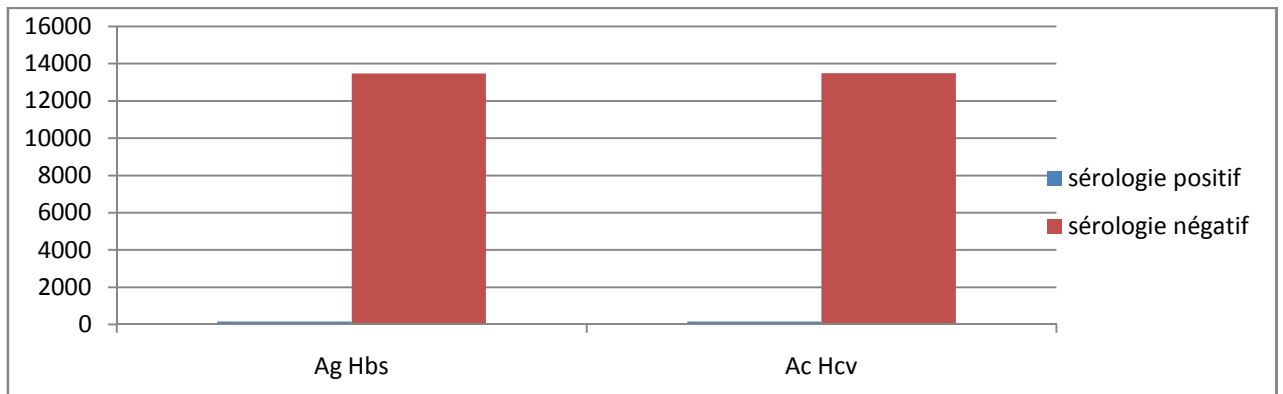


Figure 09 : Répartition des donneurs en fonction des résultats sérologiques de la technique immuno-enzymatique ELISA Sandwich

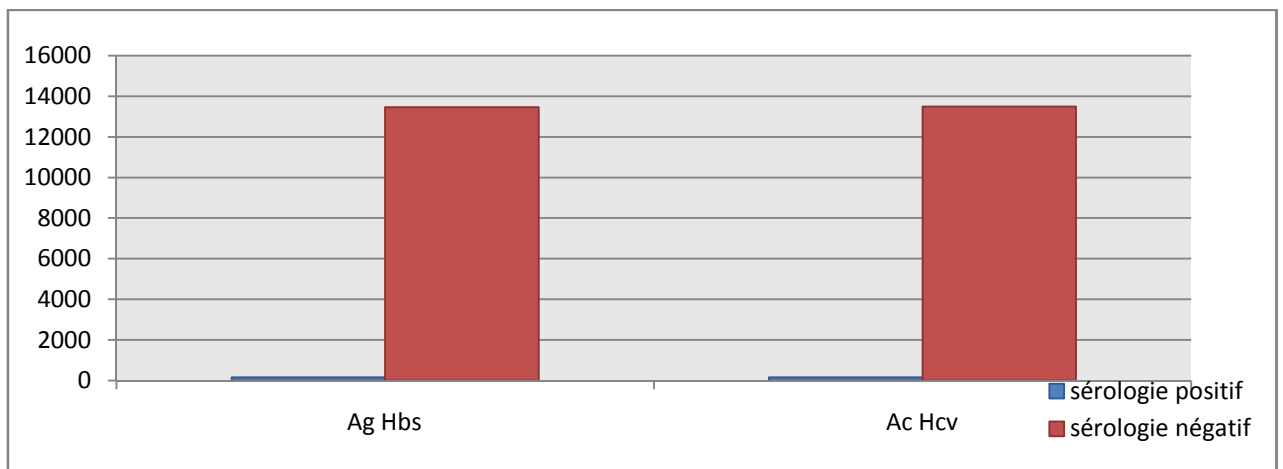


Figure 10 : Répartition des donneurs en fonction des résultats sérologiques de la technique immunoenzymatique ELISA optimisée :

D'après les figures 09 et 10 (99.77%) et (99.93%) des donneurs ont une prévalence négative pour les hépatites virale (B et C), avec une faible prévalence positive de (0.23%) de virus d'hépatite virale B (Hbs) et une très faible prévalence positive (0.07%) de virus d'hépatite virale C ; par les deux technique ELISA Sandwich et ELISA optimisée qui dans la quelle on a augmenté la température à 56 C ° et on a divisée le facteur de temps sur deux pour avoir si il ya une différence entre les deux ou non ; et es-

que on obtient les mêmes résultats que la technique ELISA , mais d'après les figures 09 et 10 on observe que les résultats se sont les mêmes sauf que la deuxième est plus rapide que la technique ELISA .

Pour la prévalence de HCV :

Nos résultats sont comparables avec les résultats d'**Ayed et Honinato (1995)** qui ont trouvé que la prévalence de HCV est 0.18% chez les donneurs du sang. Le taux de prévalence de HCV est de 0.07%, elle est nettement inférieure à 1.50% (la valeur de prévalence de l'hépatite C en Algérie) (**Chikhi, 2011**).

Pour la prévalence de HBS :

Nos résultats sont comparables avec les données de l'**OMS** qui a noté que la France est un pays considéré comme ayant une prévalence faible (<2%) de l'HBV, le nombre de cas intrafamiliaux élevé suggèrent une transmission

Horizontale importante dans la population et celle de **Denis (2004)** qui a signalé que la prévalence de HBV est inférieure à 2%. Deux autres études sur 1000 donneurs, ont trouvé une prévalence de (1.2%) (**Ainas, 2009**) et de 0.38% (**INTS, 1993**) en France.

III-1-4- Répartition des donneurs séropositifs pour HBV et HCV selon le sexe :

La répartition des donneurs séropositifs pour HBV et HCV en fonction des sexes est présentée dans la figure 11 et 12 tableaux VI et VII respectivement (Annexe V) :

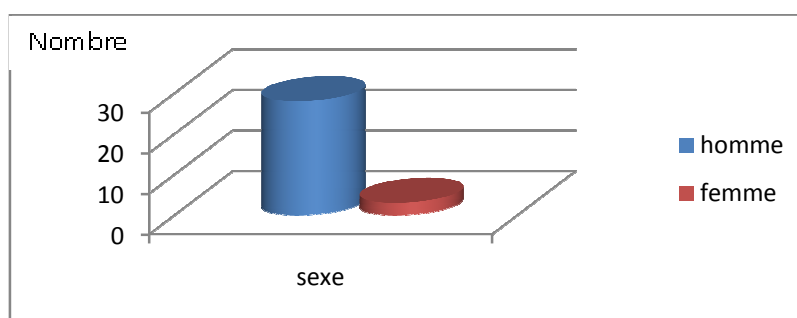


Figure 11 : Répartition des donneurs séropositifs pour HBS+ selon le sexe

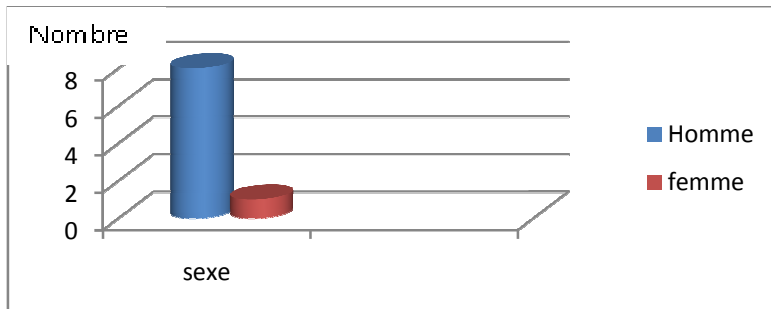


Figure 12 : Répartition des donneurs séropositifs pour HCV+ selon le sexe :

D'après les figures 11 et 12 on remarque que le pourcentage des donneurs séropositifs pour Hbs selon le sexe masculin 8.800 donneurs (28 cas positifs ; 0.32%) le sexe féminin 4.700 donneurs (03 cas positifs ; 0.03 %) et le pourcentage des donneurs séropositifs pour HCV selon le sexe masculin 8.800 donneurs (08 cas positifs ; 0.17%) le sexe féminin 4.700 donneurs (01 cas positifs ; 0.02%).

Pour la prévalence de HBS selon le sexe :

Le nombre des cas séropositifs d'HBV est plus fréquent chez les hommes (28 cas), que les femmes (03 cas) ces résultats sont comparables avec les résultats de **Bernard et al., (2005)** qui ont signalé que les hommes sont plus fréquents porteurs que les femmes ; ceci du probablement au comportement sexuel des hommes par rapport aux femmes.

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

Pour la prévalence de HCV selon le sexe :

Concernant la séropositivité en HCV nous constatons que (0.17%) hommes sont infectés par le virus d'hépatite C. Ces résultats sont en accord avec ceux de **Demblélé (1999)** qui a trouvé une séoprévalence de 6.52% chez les hommes contre 3.34% chez les femmes au CNTS de Bamako.

III-2- Résultats du dosage des paramètres biochimiques hépatiques :

Dans notre étude nous nous sommes concentrés sur les cas porteurs de l'hépatite virale B et C Hbs⁺ et HCV⁺ chez les deux sexes dont les résultats sont les suivantes :

III-2-1- Variation de taux des phosphatases alcalines chez les donneurs pour Hbs⁺ et HCV⁺ :

Variation de taux des phosphatases alcalines chez les donneurs pour Hbs⁺ et HCV⁺ est présentée dans les figures 13, 14 et tableaux VII, VIII respectivement (Annexe V)

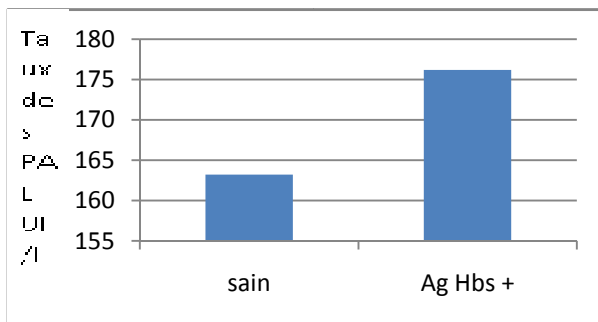


Figure 13 : Variation de taux de phosphatase alcaline chez les donneurs d'AgHBs⁺

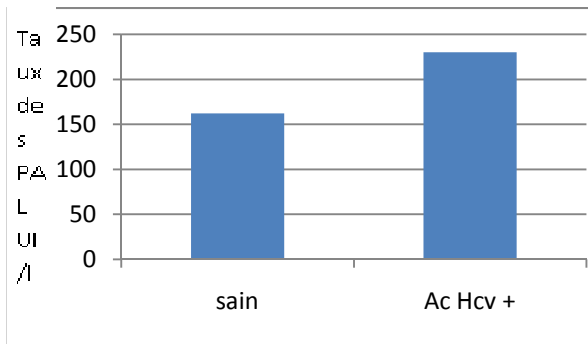


Figure 14 : Variation de taux de phosphatase alcaline chez les donneurs d'Ac HCV⁺

Par l'interprétation de ces deux figures et la comparaison entre les moyennes de phosphatase alcaline (PAL) des donneurs sains et Hbs⁺ et HCV⁺, on observe que chez les donneurs sains, les moyennes des phosphatases alcalines (PAL) est de (163.2±25.32) par contre chez les donneurs Hbs⁺ est de (176.2±22.32) donc il y a une élévation des

Taux et chez les donneurs HCV⁺ est de (230.2±45.39) ce qui signifie que il ya une augmentation par rapport aux moyennes de PAL chez les donneurs sains.

Nos résultats montrent que les moyennes des PAL chez les donneurs HCV⁺ sont plus élevées par rapport aux moyennes des PAL chez les donneurs Hbs⁺ donc il ya une perturbation de PAL au cours des infections par l'hépatite virale B et C , ce qui suggère que le dosage de PAL est suffisant pour conclure la présence d'une hépatite virale B et C

On constate donc que la phosphatase alcaline est affectée chez les donneurs ayant l'hépatite virale B et C

Selon (Aeyquem,1983) l'augmentation du taux de PAL indique une cholestase intra hépatique, une cholestase intra hépatique et une cytolyse hépatique.

III-2-3- Variation de taux des transaminases chez les donneurs Hbs⁺ et HCV⁺:

Variation de taux des transaminases chez les donneurs Hbs⁺ et HCV⁺ est représentée dans les figures 15,16 et les tableaux X, XI respectivement (annexe V)

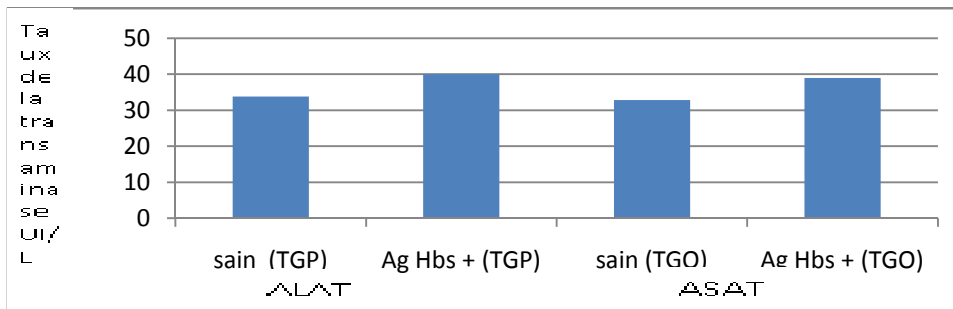


Figure 15 : Variation de taux des transaminases chez les donneurs Hbs⁺

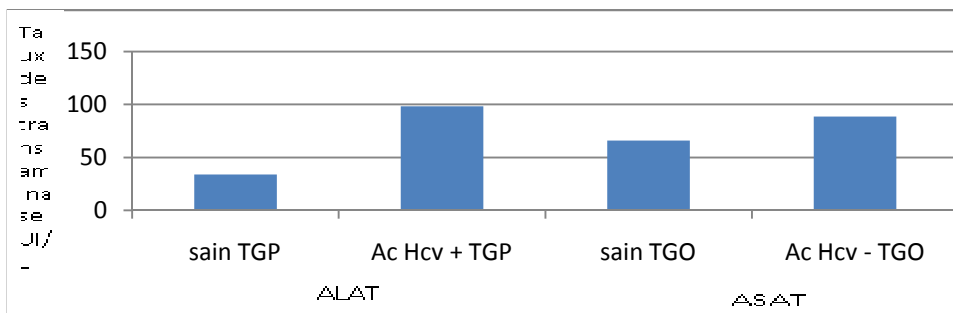


Figure 16 : Variation de taux des transaminases chez les donneurs HCV⁺

On constate selon les deux figures que les transaminases chez les donneurs Hbs⁺ et HCV⁺ sont significativement élevés par rapport aux donneurs sains.

Chez les donneurs sains le taux d'ASAT est (32,8±3,88 UI/L) par contre chez les donneurs Hbs⁺ est (39,2±5,08 UI/L) l'augmentation est donc de 64,50% (P=0,031)

Pour le taux d'ALAT chez les donneurs sains est (33,8±4,94). Par contre chez les donneurs Hbs⁺ est (40,01±6,78), avec une augmentation est de 51,22%(p=0,030)

Et chez les donneurs sains le taux d'ASAT est (65.8±6.88 UI/L) et le taux de ASAT est de (88.6±8.09) pour les donneurs HCV⁺ donc il ya une augmentation par rapport au donneurs sains.

Et pour ALAT chez les donneurs HCV⁺ (98.3±9.77) est toujours élevée par rapport aux normes.

Nos résultats montre que les taux d'ALAT sont élevés par rapport aux moyennes, des taux à élevée ceux d'ASAT dans le cas d'hépatite virale B et C et les moyennes de taux des transaminases chez les donneurs HCV⁺ sont plus élevés par rapport au donneurs Hbs⁺.

cela concorde avec les travaux de **bascil et frexinoze (2004)** qui ont noté une élévation des transaminases, atteignant 20 à 40 fois la normale (en particulier de l'ALAT) dans le cas d'hépatite virale B et atteignant 60 à 80 fois la normale(en particulier de l'ALAT) dans le cas d'hépatite C ;ce qui confirme que l'ALAT augment dans la maladie de foie dont il provoque des perturbations hépatiques concernant le métabolisme de ce dernier.

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

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

III-2-2-Variation de taux des Bilirubine (Directe et Totale) chez les donneurs :

Variation de taux des Bilirubine (direct et totale) chez les donneurs Hbs⁺ et HCV⁺ est représentée dans les figures 17,18 et les tableaux XII , XIII respectivement (annexe V)

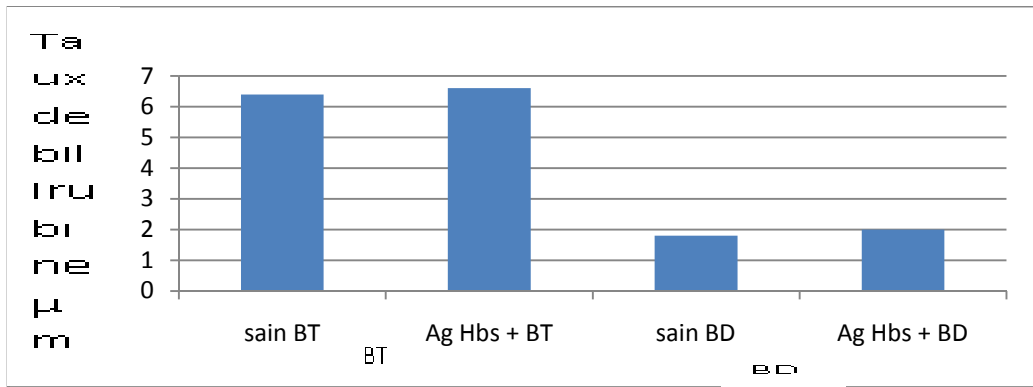


Figure 17 : Variation de taux des Bilirubine chez les donneurs Hbs⁺

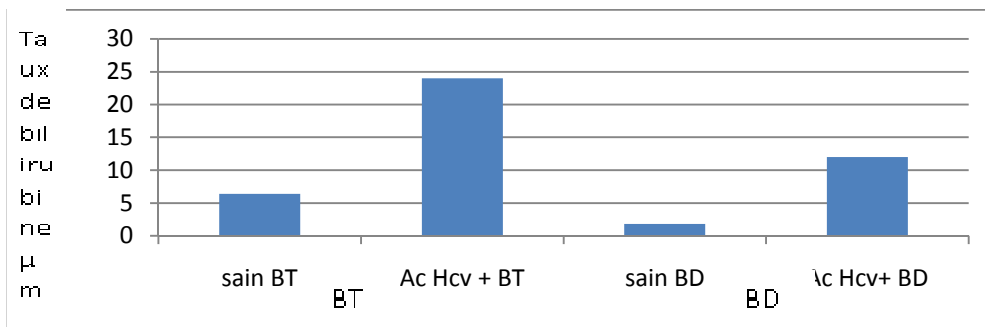


Figure 18 : Variation de taux des Bilirubine chez les donneurs HCV⁺

La bilirubine (directe et totale), selon la présentation graphique se trouve en état légèrement élevé par rapport à l'état normal chez les donneurs Hbs⁺.

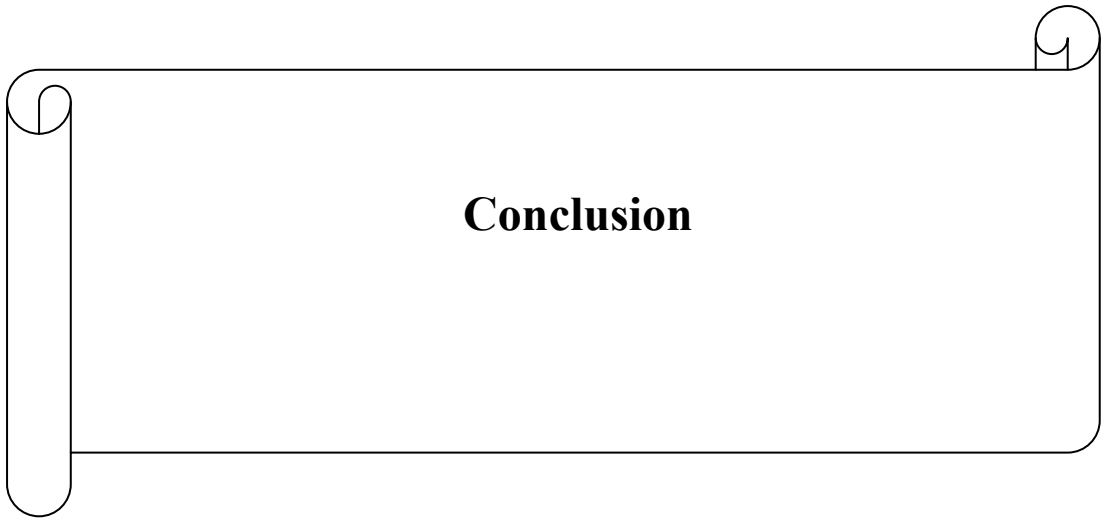
La bilirubine (directe et totale) est élevée chez les donneurs HCV⁺ par rapport les donneurs sains donc il ya une différence.

Pour la BT elle est de (6.4±0.75 U mol / L) chez les donneurs sains, et de (6.6±0.51) chez les donneurs Hbs⁺, chez les donneurs HCV⁺ elle est de (16.6±2.62).

En effet ; pour BD elle est de (1.8±0.2) chez les donneurs sains, de (2±0.25) chez les donneurs Hbs⁺ et de (8.4±0.95) chez les donneurs HCV⁺.

On constat donc que l'hépatite virale B et C affect la Bilirubine. Ce qui suggère que le dosage de la bilirubine (directe et totale) est suffisant pour déduire la présence d'une hépatite virale B et C.

Et les moyennes de la bilirubine directe et totale chez les donneurs HCV⁺ sont les plus élevés par rapport à la moyenne de la bilirubine directe et totale chez les donneurs Hbs⁺



Conclusion

Conclusion

Au cours de notre étude nous nous sommes intéressés à l'étude de la présence des hépatites virales B et C chez les donneurs de sang ; en appliquant la technique immuno-enzymatique ELISA Sandwich et la technique ELISA optimisée ; d'après les résultats sérologiques obtenus, nous avons constaté que :

- ✚ Le nombre des donneurs est important
- ✚ Les virus de l'hépatite virales B et C sont rarement trouvés chez les donneurs du sang par rapport au nombre exagéré qu'on a traité
- ✚ Une prédominance de l'hépatite virale B sur l'hépatite virale C
- ✚ Une prédominance du sexe masculin par rapport au sexe féminin
- ✚ La majorité des donneurs infectés par le virus de l'hépatite virale sont une population jeune (la tranche d'âge et comprise entre 30 et 49 ans)
- ✚ La technique immuno-enzymatique ELISA standard est précise, spécifique, par contre la technique d'optimisation ELISA est plus rapide, on gagne du temps, le développement des tests sérologiques fiables et la sécurité transfusionnelle, en cas d'urgence ou le nombre des donneurs énormes, facilite l'opération et donne un avantage au laboratoire et à la fin on obtient les mêmes résultats que la technique ELISA standard.

D'après les résultats biochimiques hépatiques On a conclu que :

- ✚ Les moyennes de tous les paramètres biochimiques chez les donneurs HCV⁺ sont plus élevées par rapport aux moyennes des donneurs Hbs⁺
- ✚ Toutes les moyennes de ces paramètres biochimiques sont élevées par rapport aux moyennes des donneurs sains.
- ✚ Les moyennes de taux d'ALAT sont élevées par rapport à la moyenne des taux d'ASAT chez les donneurs Hbs⁺ et HCV⁺.
- ✚ l'existence des perturbations et une augmentation des taux dans le bilan hépatique.



**Références
Bibliographique**

Référence bibliographiques

- **Ainas L., 2009-** prévalence des infections VIH, VHB, VHC et Syphilis chez les donneurs de sang au CHU Tizi –ouzouthèse doctorat en médecine : 2011.
- **Anonyme ., 2005 -** les maladies infectieuses ; hépatites virales B et C , <http://pasteur.fr> .
- **Asselah T., Lada O. et Boyer N., 2008-** Traitement de l'hépatite chronique B. Gastroenterol.Clin.Biol.,**32(4)** : 749-768pp.
- **Ayed Z., Haninato D., 1995-** prévalence des marqueurs sériques des virus des hépatites B et C chez les donneurs de sang et les femmes enceintes en Algérie thèse doctorat en médecine : 2005.
- **BascilL. ,Frexions K ., 2004 –** Hépatogastro-entérologie ,Edition Elsevier Masson paris : 713 .
- **Benhamou J.P., 1987-** les maladies du foie et les voies biliaires, 4eme Edition : Flammarion :5p.
- **Bernard F. , Denise A. ,Denis F ., Nicole G.,Francine H., Jeane Marie V., Emmanuel J., Isabelle M., Jean claude T., 2005-** risque de contamination horizontale au sein de collectivité d'enfants en cas de presence d'un porteur du virus de HVB et opportunité de vacciner la population contact rapport de groupe de travaille du conseil supérieur d'hygiène publique de France (GSHPF), validé lors du CSHPF : thèse doctorat en médecine :2007.
- **Buffet C., Pelletier G., 1994-** Hépatologie,2 eme édition Masson, paris :238p.
- **CatriceM ., 2009-** prévention de l'hépatite B dans les populations migrantes originaires de zones de forte endemie en France . thèse doctorat en médecine : 194-196.
- **Chikhi Y, 2011,** Hépatite B et C ; Des experts plaident pour le dépistage précoce, journal MIDI LIBRE
- **Charlotte L.D., 2009-** Analyse du mécanisme d'entrée du virus de l'hépatite B : identification d'un nouveau déterminant de l'infectivité :164 .
- **Collier L., Oxford J ., 2004-**virologie humaine :Edition : Flamarion France : 284p.
- **Crainic R ., Nicolas J.C., 1993-** virology medicals . Edition médicale internationales : 527 p.
- **Dembele A., 1999-**Considérations séro –épidémiologiques sur le virus de l'hépatite C au CNTS de Bamako. ThèsePharm .Bamako :2003.
- **Denis A. , 2004-** Evolution des stratégies vaccinales et couverture vaccinale contre l'hépatite B en France , pays de faible endémie. Path . Biol Med Mal Infect , 34 (4) :103- 114.
- **Denis D ., 1991 –**biochimie clinique, édition maloine (Ed). Paris , 451-537 pp.
- **Doré D., 1994-**biochimie clinique ,édition maloine S-a paris, 435-496 pp.
- **Dussol B., 2005 – insuffisance rénale chronique ,** revue de praticien , 16 (1) : 150-154 pp.

- **Esteba J.I., Gonzales A., Hernandez J.M., Vilademin L. et Sanches L., 1990-** Evaluation of antibodies to HCV in a study of transfusion hepatitis associated Eng J Med , (323) : 1107 -11 ;
- **Eyquem A., Desaint J. et Vignon D., 1983 –** Immunohépatologie (hépatite ,ictère , cirrose).édition maloine S-a paris : 179-229 pp.
- **Fleury H.J.A., 1993-** virologie humaine . 4éme édition :Masson .paris : 209 p.
- **Franchis R., Marcellin P., 2003-** EASL I nternational Consensus Conference on Hepatitis B.J. Hepatol ,39 (1) : 3-25.
- **Gayno S., Marcellin P., 1992-** Detection of serum HBV-DNA by polymerase chain reaction (PCR) in patients before reactivation of hepatitis B. Journale clinical ; **14 (2-3) :357-360** pp.
- **Genetet B., Andreu G. et Bidetj M., 1991-** Aide mémoire de transfusion édition flammarion paris : 210p.
- **Genetet N., 2002 –**Immunologie 4éme édition lavoisier : 842P.
- **Gerich J.E.,1993-** Control of glycaemia .clinendocrinol. Metab, 17 (2) : 551-586pp.
- **Gerolami A.,1990-** sécrétion biliaire ,Encycl.Médalir (Elsevier ; Paris) : 3-7pp.
- **Goffard A., 2012-** Infections par le virus de l'hépatite B. Hépatology**27 (2) :page 11-13**pp.
- **Goldstein S.T., Zhou F., Hadler S.C., Bell B.P., Mast E.E et Margolis H.S., 2005-** A mathematical model to estimate global hepatitis B disease burden and vaccination impact.Int J Epidemiol**34 (6) : 1329-1339**pp.
- **Gouban P., pellegrins G., 2000-**Repères en microbiologie. Gorant : 186-187.
- **Grando V., Trinchet J.C., 2003-** Histoire naturelle de l'infection par le virus de l'hépatite C. In : Dény P., Roulot D. virus de l'hépatite C . Elsevier SAS : 77-88.
- **Gretch D.R., 1997 –**Diagnostic tests for hepatitis C. Hepatology : 43-47.
- **Guindo O., 2003 –**Infection à VIH et à VHB chez les donneurs de sang au CNTS de Bamako .ThèsePharm Bamako.
- **Hadjiky P., Dadoune J., Siffroi J. ET Vendrely E., 2000-** Histologie .2éme édition Flammarion (Ed). Paris ,330P.
- **Hennen G., 1996 –**Biochimie humain .Deboek et larcier s- a Paris Bruxelles : 12p.
- **Huraux J.M., Jean Claude N., Agut H. et Hélène P., 2003-**Traité de virologie médicale , édition Estem, paris : 699P.
- **Kew M.C., Houghton M., Chou Q.L. et Kwo G., 1990-** Hepatitis C antibodies in southern african blacks withhepato-cellular carcinoma.Lancet, **(335) : 873-74**pp.
- **Kiyosawa K., Tanaka E., Sodeyama T., Yoshizawa K., Yabu K., Futura K., Lamai H., Nakano Y., Usuda S., Et Uemura K., 1994-** Transmission of hepatitis C in an isolated area in Japan : community-acquired infection . The southKisoHepatitisStudyGroup.Gastroenterology,**(106) : 1596-1602**.
- **Kramvis A., Kew M.C., 2007-** Epidemiology of hepatitis B virus in Africa, its genotypes and clinical associations of genotypes. HepatolRes ; **37(4) :S9-S19**.

- **Lavanchy D., 2004-**Hepatitis B virus epidemiology, disease burden ,treatment and current and emerging prevention and control measures . J Viral Hepat 11(2) : 97-107.
- **Lefrère j., 1998-**guide pratique des hépatites virales Elsevier masson 82-107p.
- **Lejeune O.** in :**Trepo C, Merle P, Zoulim F.** Hépatites virales B et C. édition John LibbeyEurotext .Paris , 2006 : 149-161 .
- **Levy P., Marcellin P., 1990-** Clinical course of spontaneous reactivation of hepatitis B virus infection in patients with chronic hepatitis B. Hepatology 1990 ; 12 (3 Pt 1) : 570- 4.
- **Levy j.p ., 2001-** Hématologie et transfusion. Edition Masson Paris : 150P.
- **Liaw Y.F., Chu C.M. , 2009-** Hepatitis B virus infection . Revue : Med trop 27(6) : 582- 592 pp.
- **Lok A.S., 2002 –** Chronic hepatitis B .Engl J Med 36 (4) : 1682-1683.
- **Malraux A., 2008-** le risque Transfusionnel, magazine oxymage 23 (6) : 173p.
- **Mammette A., 2002 –**virologie médicale . Edition : presses universitaires de lyon : 798p.
- **Marcellin P., 2004-** Traitement des hépatites chronique virales . Revue générale : Elsevier 26(4) : 465-468.
- **Marcellin P., Asselah T. et Boyer N., 2008-** Histoire Naturelle de l'hépatite C. In : **Lejeune O., 2006-** la maladie . In :**Trepo C, Merle P, Zoulim F.,** Hépatites virales B et C. Editions John LibbeyEurotext. Paris : 149-161.
- **MaurinJ ., 1984-** virologie médicale . Edition : flammarion médecine science , paris : 864p.
- **Moreau R., 2010 –**Maladie de foie . Journal clinical ,paris 32(4) : 75-76.
- **Naveau S., Bilian A., 2003-** hépato-gastro-entérologie. Edition : Masson . Paris : 98p.
- **Nilsen M., 1971 –**The role of hepatitis C virus –specific cytotoxic T lymphocytes in chronic hepatitis C .J Immunol 285(7) : 1157-1159p.
- **OMG., 2008-** Organisation mondiale de gastro-entérologie (En ligne) ; Recommandation pratique sur l'hépatite B .
- **Paul D ., Dominique R., 2003-** virus d'hépatite C , médie bio, France : 24p.
- **Pawlotsky J.K., Lunel F., 2004-**Le virus de l'hépatite C. In : Les virus transmissibles par le sang : 23-52pp.
- **PeninF ., 2003-** Structural biology of hepatitis C virus. Clin Liver Dis, 7(2) : 1-21 pp.
- **Roingard P., Hourieux C. et Blanchard E., 2004-** Hepatitis C virus ultrastructure and morphogenesis. BioCell, 96(5) : 103-8pp.
- **Sarro Y., 2002 –**Etude des paramètres biologiques chez les donneurs de sang infectés par le virus de l'hépatite C au CNTS de Bamako .ThèsePharm . Bamako : 2003 .
- **Schaffler A., Schidi S., 1999-** Anatomie Physiologie Biologie. Maloine (Ed)., Paris :338p.
- **SchaechterM ., Meddoff H., Eisenstein P., 1999-** Microbiologie et pathologie Infectieuse 2éme Edition Flammarion médecine science américaine. 530p.

- **Schaechter et al., 1999-** Microbiologie et pathologie infectieuse ,2éme Edition Américaine de Baeck université.530p.
- **Segondy M., 2005-** Diagnostic et Suivi Biologique des hépatites virales . Rubrique Gastroentérologie-Hépatologie ou Infectiologie ;32(4) : 15-17pp.
- **Seigneurin J.M., Morand P., 1997-** Virologie moléculaire médicale. Edition médicale internnationale. France : 486p.
- **Siegenthaler P., Bosman B., 2008** – Les transfusions des produits sanguins labiles , 4éme Edition : Elservier Masson .Paris : 149p.
- **Snon T., Ikuta Y. et Hasegawa M., 1992-**prévalence of hepatitis C virus antibodies in yatsukatown of Simaneprefecture , Nippon Shokakihyo Gakkai Zasshi . Japan : 89(6) : 1173-8pp.
- **Sophie H., 2002-**Hépatite B egrasses, Mini revues : Hépatogastro, 9(2) : 89-91pp .
- **Tangara O., 2004-**Coinfection hépatite B hépatite C Chez les donneurs de sang au CNTS de bamako .ThèsePharm . 57-61.
- **Tazerout M., Galinier Y., 2003-** Les Clés de l’Hemovigilance .Journale clinique de France **46(3) :40-44pp** .
- **Thibault V., 2001** – infections nosocomiales dues au virus de l’hépatite B , Annale de biologie clinique , Paris , Jhonhibbye Euro Text**59(2) : 12-18p**.
- **Thomas D.L., 2000-**Hepatitis C épidemiology .(**242**) : **25-41**.
- **Thribault ., 2008** –Les génotypes du virus de l’hépatite B dans l’Est Algérien magazine de la santé France pp **7-13**.
- **Traore H.,2005-** Etude des paramètres biologiques chez les donneurs du sang infectés par le virus de l’hépatite C au CNTS de bamako. Thèse Pharm. Bamako :2003.
- **Villeneuve J.P. ,2012-**Chronique de l’hépatite B et David Barbeau , Le Médecin du Québec, **47(4) : 1045-1049pp**.
- **VochelleV ., Trepo C. et Merle P., 2007-**Traitement des hépatites virales chroniques. Revue française de transfusion et immuno-hématologie France **16(7) : 618-625pp**.
- **World Health Organization ., 2002** –Hepatitis B, Department of Communicable Diseases Surveillance and Response ,To find this document : WHO >Programmes and projects > Epidemic and Pandemic Alert and Response (EPR) in Burundi. WklyepidemiolRec , 1997., **21 (2) : 152-3pp**.
- **Zarski J.P., Thelu M.A., Rachail M. et Seigneurin J.M., 1991-** Biologie moleculaire de virus de l’hépatite B. Gastroenterol clin biol .**15(2) : 497-508pp**.
- **Zoulim F., Kay A., Merle P. et Trèpo C., 2006-** Virologie de l’hépatite B, journalesclinicales**27(1) : 17-19pp**.



Annexe

Annexe I

<u>Service de transfusion sanguine</u>		
<u>Fiche d'examen médical</u>		
Date :		
Nom :	Prénom :	
Sexe : Masculin	Féminin	Date et lieu de naissance
Etat civil : Célibataire	Veuf	Marié
Nombre d'enfant :		
Profession :		
Adresse :		
<u>Histoire du don</u>		
Type de donneur : Régulier	Occasionnel	Contrepartie
Date de premier don :	Lieu de prélèvement :	
Incidents post don : Oui	Non	Préciser :
<u>Examen médical</u>		
-Etat général :		
-Poids :	-Taille :	
-Tension artérielle :	-Pouls :	
-Coloration des muqueuses :	-Notion d'amaigrissement :	
-Prise d'un léger repas : Oui	Non	
-Grossesse : Oui	Non	
-Allaitement : Oui	Non	
-Menstruation : Oui	Non	
-Antécédents pathologiques :		
-Acte chirurgical : subi ou prévu		
-Pathologie : -Cardio-vasculaire	-Neurologie (ex : Epilepsie)	
-Endocrinologie (ex : Diabète)	-Gastro-entérologie.	

Annexe II

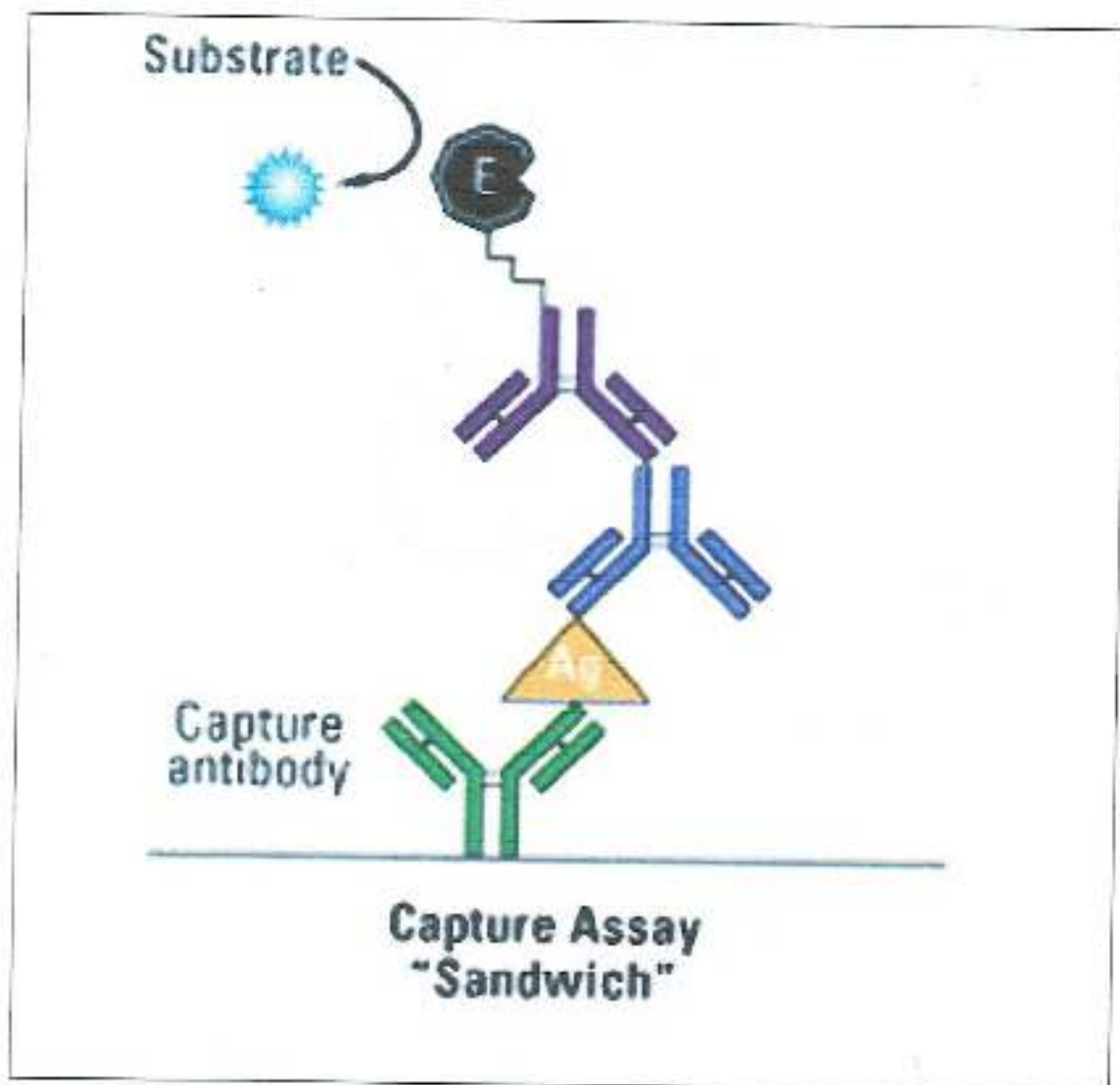


Figure 20 : Schéma récapitulatif du principe ELISA Sandwich.

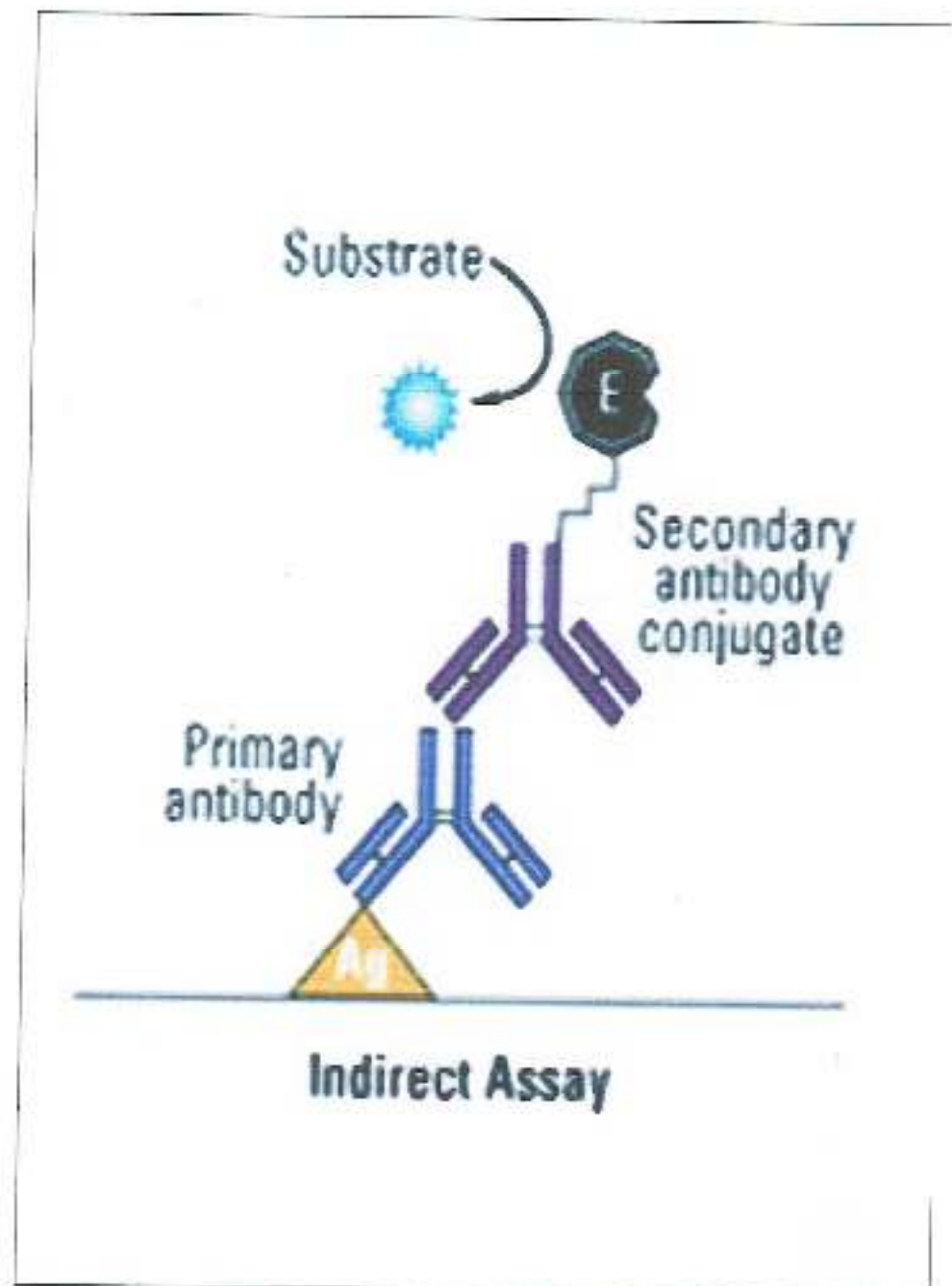


Figure 21 : Schéma récapitulatif du principe ELISA indirecte.

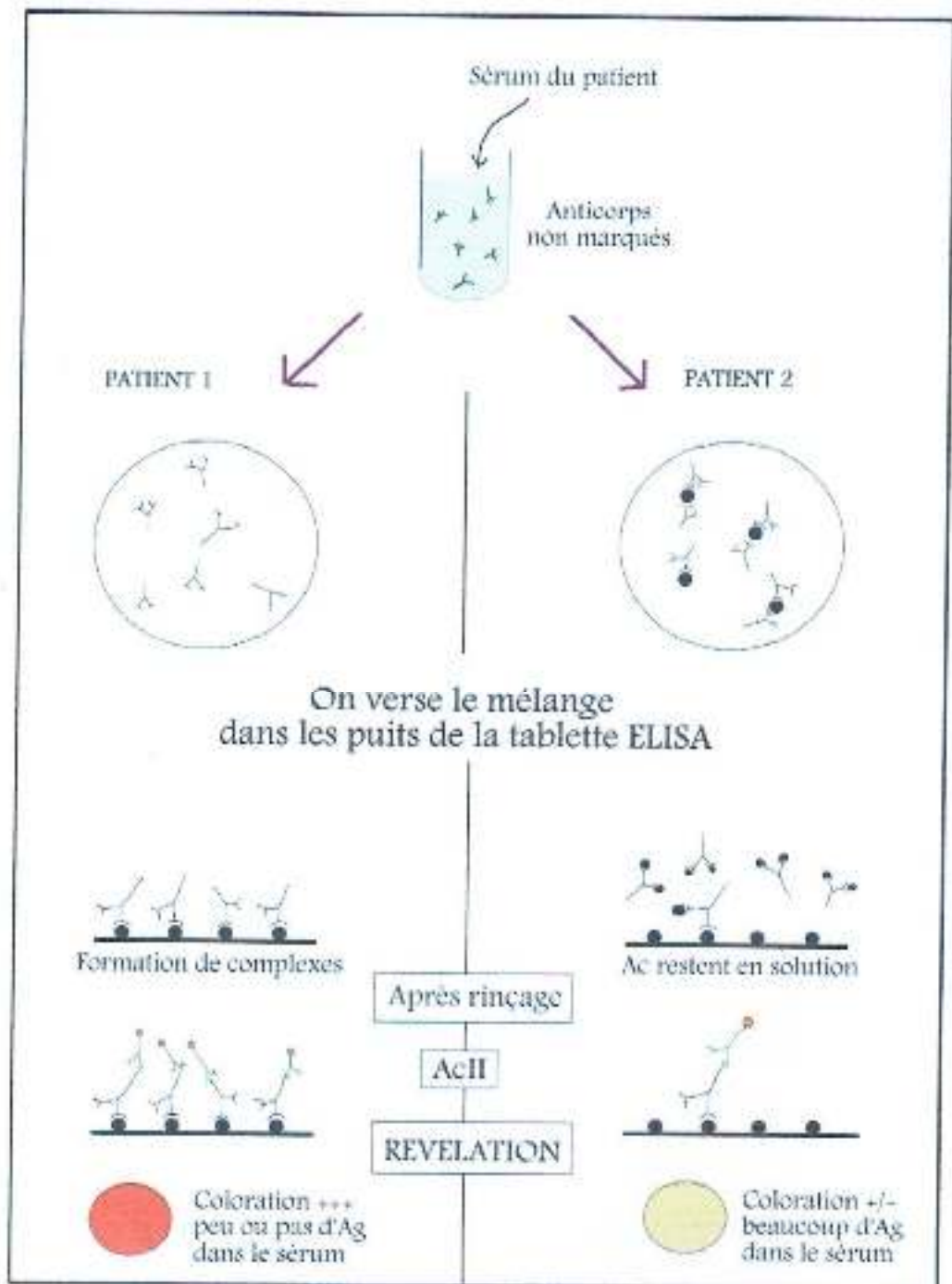


Figure 22 : Résumé des étapes d'un test ELISA indirect

Annexe III

:

Appareillage :

Centrifugeuse des tubes.

Centrifugeuse des poches.

Réfrigérateur.

Tensiomètre.

Balance.

Agitateur des poches.

Clampeuse.

Chaine Elisa.

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

I. Matériel utilisé :

un garrot.

Gants de laboratoire en latex à usage unique.

Les poches du sang.

Les tubes héparines.

Les micropipettes réglables.

Les micropipettes fixes de volume : 10 µl, 50µl, 100µl.

Portoirs en plastiques.

Les embouts jaunes (0 µl- 100 µl).

Les embouts bleus (10 µl- 1000µl).

Coton.

Compresse.

Alcool.

Eau de javel.

Eau distillée.



Figure 21 : Matériel de laboratoire



Les micropipettes



Les embouts



portoir avec des tubes.



Centrifugense des tubes



La chaîne ELISA



Figure 23 : La chaîne ELISA



Figure 24 : La centrifugeuse



Agitateur des poches



Lecteur de chaîne ELISA



Laveur de la chaîne ELISA

Réactifs	Nature des réactifs	Présentation	
		1 plaque	5 plaques
	MICROPLAQUE : (R1) 12 barrettes de 8 cupules sensibilisées couvertes d'Ac monoclonaux anti-VHC de la capside, d'Ag recombinantes purifiés et de peptides mutants spécifique au VHC.	1	5
	SOLUTION DE LAVAGE CONCENTREE (20X) : (R2) Tampon tris NaCl pH 7.4 Conservateur : Proclin™ 300 (0.04%)	1 flacon 70 ml	1 flacon 235 ml
	SERUM DE CONTROLE NEGATIF : (R3) Tampon tris HCl contenant du BSA Conservateur : Aside de sodium (0.1%)	1 flacon 1ml	1 flacon 3 ml
	SERUM DE CONTROLE POSITIF : (R4) Sérum humain contenant des anticorps anti-HCV négatif pour l'antigène HBs et pour les anticorps anti-HIV1 et anti-HIV 2, inactivé photochimiquement Conservateur : Proclin™ 300 (0.1%).	1 flacon 1 ml	1 flacons 3 ml

	<p>CONTROLE POSITIF ANTIGENE : (R5a) Contrôle positif d'antigène (capsid synthetic peptide) Lyophilisé.</p>	1 flacon 1ml	1 flacon 1ml
	<p>DILUANT ANTIGENE : (R5b) Diluant d'Ag pour le R5a Eau avec proclin™ 300 (0.5%)</p>	1 flacon 1ml	1 flacon 1ml
	<p>DILUANT POUR ECHANTILLON : (R6) Constitué d'anticorps monoclonaux de souris anti-VHC de la capside (Couleur violette). Conservateur : acide de sodium (<0.1%), azimnerl 0.025%</p>	1 flacon 15 ml	2 flacons 2 x 40 ml
	<p>CONJUGUE : (R7) Constitué d'anticorps de souris marqués à la peroxydase dirigés contre les IgG humains et d'une protéine marquée à la peroxydase. (couleur verte) Conservateur : proclin™ 300 (0.5%)</p>	1 flacon 15 ml	2 flacons 2 x 40 ml

	<p>TAMPON SUBSTRAT DE LA PEROXYDASE : (R8) Solution d'acide citrique et d'acétate de sodium pH 4.0 contenant 0.015% d'H_2O_2 et 4% de diméthylsulfoxyde (DMSO)</p>	<p>1 flacon 60 ml</p>	<p>2 flacons 2 x 60 ml</p>
	<p>CHROMOGENE : (R9) Solution contenant du tétraméthyl benzidine (TMB)</p>	<p>1 flacon 5 ml</p>	<p>2 flacons 2 x 5 ml</p>
	<p>SOLUTION D'ARRET : (R10) Solution d'acide sulfurique 1N</p>	<p>1 flacon 28 ml</p>	<p>3 flacons 3 x 28 ml</p>
	<p>FILMS ADHESIFS</p>	<p>X 4</p>	<p>X 12</p>

Tableau 6 : Composition de la trousse BIO-RAD



Figure 25 : Trousse BIO-RAD pour le dépistage des anticorps anti-HCV

Tableau A : Trousse pour le dépistage de l'antigène HBs MUREX comprenant :

NATURE DES REACTIFS	PRESENTATIONS
Microplaque : 12 barrettes de 8 cupules sensibilisées avec un anticorps monoclonal anti-HBs	1 microplaque
Solution de lavage : Glycine-Borate concentré 20 fois contenant 0,01% de conservateur Bronidox.	1 flacon 125 ml
Contrôle négatif : sérum humain normal dilué dans du tampon contenant des protéines d'origine bovine	1 flacon 2,5 ml
Contrôle positif : (sérum humain inactivé dilué dans du tampon contenant des protéines d'origine bovine) constitué d'AgHBs.	1 flacon 2 ml
Diluant échantillon : tampon vert/brun avec des détergents et Des protéines de chèvre et de bœuf. Homogénéiser par inversion avant l'emploi. Contient un conservateur de 0,05% de ProClin 300	1 flacon 16 ml
Conjugué : contenant des anticorps de chèvre dirigés contre l'AgHBs marqué à la peroxydase de raifort dans un tampon rouge contenant des protéines de bœuf et de chèvre 0,05% de ProClin300	1 flacon de 6ml ou 2 flacons 16 ml dans chacun
Solution d'arrêt : solution d'acide sulfurique, concentration entre 0,5M et 2M.	Non fourni
Diluant substrat : solution incolore de citrate de tri-sodium et d'eau oxygénée.	1 flacon 35ml
Substrat concentré : solution rose de 3,3',5,5'-tétraméthylbenzidine (TMB) et de stabilisants	1 flacon 35ml



Figure : Trousse pour le dépistage de l'antigène HBs.

Annexe IV

Tableau B : Feuille de résultats (exemple de DO obtenues après lecture d'une plaque HBs)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0,041	0,041	0,039	0,038	0,040	0,042	0,042	0,042	0,042	0	0	0
B	0,037	0,038	0,040	0,038	0,043	0,042	0,044	0,040	0,041	0	0	0
C	0,034	0,036	0,042	0,042	0,042	0,043	3,424	0,040	0,040	0	0	0
D	0,036	0,036	0,037	0,044	0,040	0,043	0,045	0,043	0,043	0	0	0
E	0,040	0,041	0,040	0,048	0,043	0,043	0,044	0,041	0,006	0	0	0
F	0,038	0,037	0,037	0,041	0,043	0,041	0,041	0,041	0,040-	0	0	0
G	0,039	0,039	0,038	0,044	0,042	0,042	0,041	0,043	0,042-	0	0	0
H	0,041	0,038	0,040	0,044	0,044	0,042	0,043	0,043	1,989+	0	0	0

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0,048	0,056	0,049	0,054	0,044	0,045	0,047	0,048	0,057	0,046	0,000	0,001
B	0,055	0,051	0,049	0,051	0,049	0,051	0,057	0,054	3,004	0,060	0,001	0,000
C	0,061	0,054	0,050	0,051	0,062	0,060	0,050	0,044	0,050	0,046	0,002	0,003
D	0,050	0,048	0,046	0,047	0,047	0,052	0,063	0,047	0,052	0,061	0,003	0,002
E	0,054	0,053	0,065	0,046	0,047	0,052	0,046	0,051	0,052	0,245	0,003	0,001
F	0,056	0,055	0,046	0,053	0,054	0,043	0,048	0,051	0,052	3,903	0,002	0,000
G	0,045	0,052	0,053	0,049	0,064	0,053	0,051	0,048	0,052	0,002	0,003	0,002
H	0,052	0,048	0,048	0,052	0,083	0,047	0,052	0,064	0,057	0,001	0,001	0,000

Tableau IX : Feuille de résultats (exemple de DO obtenues après lecture d'une plaque HBs).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0,045	0,057	0,045	0,046	0,045	0,046	0,046	0,046	0,050	0,050	0,050	0,042
B	0,046	0,048	0,048	0,048	0,050	0,047	0,049	0,050	0,051	0,050	0,051	0,054
C	0,041	0,049	0,046	0,052	0,050	0,048	0,046	0,052	0,050	0,049	0,050	0,048
D	0,047	0,049	0,042	0,051	0,050	0,048	0,049	0,047	0,051	0,051	0,051	0,049
E	0,046	0,054	0,047	0,048	0,053	0,053	0,048	0,050	0,053	0,052	0,053	0,051
F	0,043	0,047	0,045	0,046	0,049	0,048	0,048	0,049	0,050	0,049	0,050	0,049-
G	0,048	0,050	0,046	0,049	0,041	0,048	0,053	0,056	0,048	0,053	0,053	0,050-
H	0,047	0,048	0,047	0,046	0,052	0,048	0,050	0,050	0,049	0,050	0,050	1,399+

Tableau X: Feuille de résultats (exemple de DO obtenues après lecture d'une plaque HCV).

C:\1001-KOALPIA.TMP

SENSITIVE SERVICE TO: C2 Serials Friday 24 January 1982 08:29
 Raw data filename C:\genlab\protocol\labreport\10010001.TMP
 processed by protocol C:\genlab\protocol\labreport\1001
 Data report file C:\genlab\protocol\labreport\1001
 Working type Dual wave/amplitude
 Instrument version MULTIRAMAN 80 - SERIALS STA V, 2.1.1
 Filter 1 15nm
 Filter 2 none
 Scan time 00:00:00
 Interval between scans 0.010000
 Max 700

Raw data values calculated:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
A	2.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000
B	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
C	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
D	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
E	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
F	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
G	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
H	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

$$\pi_{11} N = \frac{0,001 + 4,005}{2}$$

$$\pi_{11} N = 0,003$$

$$V_s = (\pi_{11} N - \text{blank}) + 0,070$$

$$V_s = (0,003 - 0,005) + 0,070$$

$$V_s = 0,068$$

$\frac{N_0}{F_0} \rightarrow$ Dos 2,584 \rightarrow 1185 points on reference

Annexes V

Tableau II : Répartition des donneurs en fonction de sexe :

Sexe	Homme	Femme	totale
Nbre du donneur	8800	4700	13500
Pourcentage(%)	65.18%	34.81%	100%

Tableau III: Répartition des donneurs selon les tranches d'âge

Tranche d'âge	[18-28[[28-38[[38-48[[48-58[>=58
Effectif des donneurs	3910	5325	3743	475	47
Pourcentage (%)	28.96%	39.44%	27.73%	3.52%	0.35%

Tableau IV : Répartition des donneurs en fonction de résultat Sérologie pour AG Hbs :

Sérologie de l'AG Hbs	Effectif	Pourcentage
Sérologie positif	31	0.23%
Sérologie négatif	13,469	99.77%
totale	13,500	100%

Tableau V : Répartition des donneurs en fonction de résultat Sérologie pour l'hépatite virale c :

Sérologie de l'AG Hcv	Effectif	Pourcentage
Sérologie positif	09	0.07%
Sérologie négatif	13,491	99.93%
totale	13,500	100%

Tableau VI :Répartition des donneurs d'Ac Hbs positif selon sexe :

	Homme	femme
Effectif des donneurs	8,800	4,700
Hbs positif	28	03
pourcentage	0.32%	0.03%

Tableau VII:Répartition des donneurs d'AC Hcv positif selon sexe :

	Homme	femme
Effectif des donneurs	8,800	4,700
Hcv positif	08	01
pourcentage	0.17%	0.02%

Tableau VII : taux de phosphatase alcaline chez les donneurs de sang pour Ag HBS⁺ :

Ag Hbs – (sain)	Ag Hbs +
167	255
107	185
210	141
227	227
105	127
160	120
104	177
109	174
224	182
230	144
178	148
133	189
200	122
204	120
176	147

166	205
134	250
138	202
144	220
210	189
234	230
222	221
176	200
176	134
102	182
114	142
133	139
168	201
176	170
202	140
206	134
Moyenne	
Ecartype 163.2 +- 25.32	176,2 +- 22,32

Tableau IX: taux de phosphatas alcaline des donneurs de sang pour l'hépatite virale c HCV⁺ :

AcHcv -	AcHcv+
290	322
299	258
309	333
404	460
206	403
350	440
567	453
450	330
402	371
Moyenne	

Ecartype	223.2 +- 54.31	230.2 +- 45.39
----------	----------------	----------------

Tableau X: taux des transaminases chez les donneurs de sang pour AgHbs+ :

Ag Hbs + TGP	Ag Hbs + TGP	Ag Hbs – TGO	Ag Hbbs+ TGO
30	65	25	61
30	30	37	36
20	68	22	60
40	55	39	51
49	60	41	40
22	62	24	34
34	33	30	52
50	64	27	44
32	57	42	52
42	61	44	34
39	40	37	32
48	35	39	33
30	39	22	55
40	34	32	37
25	46	49	30
28	38	20	30
37	27	37	30
44	30	39	39
47	39	46	33
49	31	40	40
21	26	38	39
39	20	28	33
22	24	29	26
36	33	40	42
32	47	47	32
50	56	37	39
49	20	25	32
31	22	29	26

43	45	32	36
33	40	30	20
48	32	34	22
Moyenne écartype 33.8 +/- 4.94	40.01 +/- 6.78	32.8 +/- 3.88	39.2 +/- 5.08

Tableau XI: taux des transaminases chez les donneurs de sang pour l'hépatite virale c HCV+ :

AcHcv - TGP	AcHcv + TGP	AcHcv - TGO	AcHcv + TGO
80	185	150	86
88	96	144	128
90	94	90	134
120	103	98	98
105	108	120	136
110	121	119	109
128	9	100	100
132	66	104	88
92	94	93	90
Moyenne Ecartype 66.8 +/- 7.93	98.3 +/- 9.77	65.8 +/- 6.88	88.6 +/- 8.09

Tableau XII: taux de la bilirubine chez les donneurs de sang pour Ag Hbs+ :

Ag Hbs - BT	Ag Hbs + BT	Ag Hbs - BD	Ag Hbs + BD
7	6	2	1
9	7	2	2
5	8	1	2
5	5	2	1
6	7	2	2
4	3	3	2
3	2	4	2
7	4	2	1
2	9	1	2

1	7	1	3
9	5	2	2
4	5	3	3
4	4	3	3
9	1	4	2
8	3	2	1
7	2	2	1
2	4	2	1
5	4	1	2
3	8	3	3
2	7	2	3
7	9	1	2
8	2	3	3
4	1	1	3
3	2	1	1
4	3	2	3
5	2	2	2
5	5	3	2
4	5	1	3
7	8	2	1
8	3	3	2
7	1	1	2
Moyenne			
Ecartype 6.4 +- 0.75	6.6 +- 0.51	1.8 +- 0.2	2 +- 0.25

Tableau XIII : taux de la bilirubine chez les donneurs de sang l'hépatite virale c HCV⁺ :

AcHcv - BT	AcHcv + BT	AcHcv - BD	AcHcv + BD
15	22	9	9
22	24	8	8
25	34	10	8
30	30	8	8
24	25	9	9

18	19	10	10
29	33	10	11
32	29	12	8
37	40	9	9
Moyenne			
Ecartype 18.4+- 2.79	16.6 +- 2.62	8.8 +- 0.9	8.4 +- 0.95