



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

**UNIVERSITE SAAD DAHLEB BLIDA 1**

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie Physiologie Cellulaire

Laboratoire des Biotechnologies, Environnement et Santé

Projet de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme

de Master en science de la nature et de la vie

Filière Sciences Biologiques

**Option** : Génétique et physiologie

**Thème** :

**Corrélation entre la charge virale du virus de  
l'hépatite B et le taux de l'antigène HBs**

**Réalisé par** : M<sup>lle</sup> LARBI Meriem

M<sup>lle</sup> MOUSSAOUI Lydia

**Soutenu le** : 02/07/2018

**Devant le jury composé de:**

Nom Prénom	Grade	Lieu	Qualité
M <sup>me</sup> AISSANI R.	MCB	USDB-1	-Présidente
M <sup>f</sup> MOHAMED SAID R.	MCB	USDB-1	-Examineur
M <sup>me</sup> SELMANI K.	Pharmac/microbiologiste	IPA	-Promotrice
M <sup>me</sup> GUESSAIBIA N.	MCB	USDB-1	-Co-promotrice

Promotion 2017-2018

## Remerciements

Au terme de ce travail, on tient à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a guidés sur le chemin du savoir, et qui nous a donné le courage, la volonté et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Au second lieu, on tient à remercier notre promotrice *M<sup>me</sup> SELMANI, K.*, de nous avoir proposé ce thème, et d'avoir eu la gentillesse et la patience, de mettre à notre disposition toutes ses connaissances, son savoir-faire, ainsi que tous les moyens nécessaires pour effectuer notre mémoire de fin d'étude dans les meilleures conditions.

On exprime nos sincères remerciements à notre co-promotrice *M<sup>me</sup> G'UESSAIBIA, N.* d'avoir accepté gentiment d'encadrer ce travail, pour le temps et l'effort qu'elle a consacré pour réaliser ce travail, pour sa patience, ses encouragements, et de nous avoir prodigué de judicieux conseils.

On exprime notre profonde gratitude à *M<sup>me</sup> AISSANI, R.*, de nous avoir fait l'honneur de présider le jury.

On remercie vivement notre chef d'option et enseignant *M<sup>r</sup> MOHAMED SAID, R.* d'avoir partagé ses connaissances avec nous et de nous avoir toujours soutenus et aidés ainsi que pour l'examen de ce modeste travail.

Nos plus vifs remerciements vont aussi :

A *M<sup>me</sup> BENSALÉM, A.* chef de laboratoire des Virus des Hépatites de l'Institut Pasteur de Sidi-Fredj, à toute son équipe qui nous a fait profiter de son expérience, en particulier : *M<sup>me</sup> HIFI, N.* *M<sup>me</sup> BENCHERIFA, N.* *Mr ALI CHERIF, T.* *M<sup>r</sup> KERIOUI, C.* pour leur collaboration, et pour leur accueil.

Des remerciements particuliers vont également à *NEHAL, S* et *LEMITI, O.* pour nous avoir aidés à réaliser l'étude statistique de ce travail.

Et enfin un grand merci à l'ensemble des enseignants du département de Biologie et Physiologie Cellulaire qui ont contribué à notre formation durant nos années d'études, et à tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

## Dédicaces

Je dédie ce travail en signe de respect et de reconnaissance à mes très chers parents

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.

Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.

Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, bien que je ne vous en acquitterai jamais assez.

Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive.

A mes deux chers frères *Amar* et *Oussama Redouane*.

A ma très chère grand-mère paternelle «*Ouardia*». Que ce travail soit l'expression des vœux que tu n'as cessé de formuler dans tes prières. Que dieu te préserve santé et longue vie.

A la mémoire de mes chers 3 grands-parents qui sont toujours dans mon esprit et dans mon cœur, je vous dédie aujourd'hui ma réussite, Que dieu, le miséricordieux, vous accueille dans son éternel paradis.

A ma tante Lydia de qui j'ai hérité le prénom.

A mon cher binôme adorée *Merry* qui a supporté mon humeur.

A mes meilleures amies et confidentes *Meriem* et *Nour* qui étaient toujours là pour moi.

A mes oncles et leurs épouses, mes tantes et leurs époux, à tous mes cousins et cousines et à toute ma famille.

A tous mes amis de la promotion Génétique et ceux de l'université.

**MOUSSAOVI LYDIA**

## Dédicaces

Mon premier remerciement va à Allah de m'avoir donné la capacité, la force et la patience d'aller jusqu'au bout de mon rêve.

Je dédie ce travail,

A ma très chère maman, source d'amour qui m'a donné naissance, pour tous les soutiens et sacrifices dont elle a fait preuve à mon égard.

A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir « mon papa chéri ».

A mes deux sœurs *Nouha* et *Hadjer* et à mon frère *Nabil* ainsi qu'à mon beau-frère *Mustafa*.

A mes amours, mes petits neveux que j'adore *Chakib* et *Djalil* ainsi que mon petit cœur *Wassim*.

A ma chère grand-mère maternelle «*Mami Fatiha* » que dieu te préserve santé et longue vie.

A la mémoire de mes chers 3 grands-parents qui sont toujours dans mon esprit et dans mon cœur, je vous dédie aujourd'hui ma réussite. Que dieu, le miséricordieux, vous accueille dans son éternel paradis.

A mon cher binôme et pupuce adorée *Lili* qui a supporté mon humeur et à mes copines chéries : *Nour, Yasmine, Manar, Souad, et Ihcene*.

A mes oncles et leurs épouses et mes chères tantes.

A tous mes cousins et cousines et à toute ma famille.

A tous mes amis de la promotion Génétique et ceux de l'université.

**LARBI MERJEM**

## Résumé

L'hépatite B est une infection virale potentiellement mortelle causée par le virus de l'hépatite B. l'antigène de surface (Ag HBs) de ce virus est le marqueur sérologique de l'infection, son titre sérique serait le reflet de la présence de l'ADN dans l'hépatocyte.

L'objectif de cette étude est de voir s'il existe ou non une corrélation entre la charge virale du virus de l'hépatite B et le taux de l'Ag HBs chez des patients souffrants d'une hépatite B chronique.

Pour cela, une étude a été menée au sein de l'Institut Pasteur d'Algérie (IPA), laboratoire Virus des hépatites de Sidi Fredj de la wilaya d'Alger. L'étude concerne 169 patients porteurs chroniques. Pour ces échantillons une sérologie complète a été réalisée, une mesure de la charge virale par PCR en temps réel et de l'Ag HBs.

La population étudiée comprenait 95 (56,21 %) hommes et 74 (43,79 %) femmes avec un Sex Ratio de 1,28. L'âge des patients est compris entre 16 et 77 ans.

Les résultats obtenus sur les patients non traités ont montré une corrélation faible mais significative ( $r = 0,4$  ;  $P < 0,0001$ ) entre le taux de l'Ag HBs et la charge virale du VHB.

Dans le cas des patients traités, la mesure du taux de l'Ag HBs prédirait la réponse au traitement et l'évolution des patients, un suivi à long terme est nécessaire pour confirmer son rôle.

La mesure du taux de l'Ag HBs est un nouveau marqueur de suivi de l'hépatite B chronique associé à la charge virale. L'interprétation reste difficile dans certaines situations, d'où la nécessité d'études complémentaires et sur des échantillons plus importants.

**Mots clés :** Hépatite virale, VHB, mesure du taux de l'Ag HBs, PCR en temps réel.

## Abstract

Hepatitis B is a potentially lethal viral infection caused by the virus of the Hepatitis B. the surface antigen (HBsAg) of this virus is the serological marker of the infection, its serum titer would be a reflection of the presence of DNA in the hepatocyte.

The objective of this study is to determine whether or not there is a correlation between hepatitis B viral load and HBsAg levels in patients with chronic hepatitis B.

For this reason, a study was led at the Pasteur Institute of Algeria (IPA) laboratory hepatitis virus in Sidi Fredj of the wilaya of Algiers, The study concerns 169 chronic carrier patients. For these samples, a complete serology was performed, a measurement of the viral load by real-time PCR and a quantification of HBsAg.

The study population consisted of 95 (56.21%) men and 74 (43.79%) women with a Sex Ratio of 1.28. The age of the patients is between 16 and 77 years old.

The results obtained on untreated patients showed a low correlation but main fully ( $r = 0.4$ ,  $P < 0.0001$ ) between the level of HBsAg and the viral load of HBV.

In the case of treated patients, measurement of HBsAg levels would predict treatment response and outcome for the patient, and long-term follow-up is needed to confirm its role.

Measurement of HBsAg is a new marker for chronic hepatitis B monitoring associated with viral load, the interpretation remains difficult in some situations, hence the need for complementary studies and larger samples.

**Key words:** viral hepatitis, HBV, measuring the rate of HBs Ag, real-time PCR.

## ملخص

التهاب الكبد B هو عدوى فيروسية يحتمل أن تهدد الحياة ويسببها فيروس التهاب الكبد B, المستضد السطحي (Ag HBs) لهذا الفيروس هو علامة مصلية للعدوى, عياره المصلي هو انعكاس لوجود الحمض النووي الريبي منقوص الاكسجين في الخلايا الكبدية.

الغرض من هذه الدراسة هو تحديد ما إذا كان هناك علاقة بين الحمولة الفيروسية لفيروس التهاب الكبد B ومستويات ال Ag HBs للمرضى الذين يعانون من عدوى التهاب الكبد B المزمن.

لهذا ، أجريت دراسة في معهد باستور بالجزائر (IPA), مختبر فيروس الالتهاب الكبدي في سيدي فرج من ولاية الجزائر العاصمة. تتناول الدراسة 169 مريضا مزمنًا. لهذه العينات ، تم إجراء اختبار كامل للمصل, قياس الحمل الفيروسي بواسطة تفاعل البلمرة المتسلسل في الوقت الحقيقي ، وتقدير الكميات Ag HBs.

تكون مجتمع الدراسة من 95 (56.21%) من الرجال و 74 (43.79%) من النساء مع نسبة الجنس من 1.28. عمر المرضى بين 16 و 77 سنة.

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها على المرضى غير المعالجين وجود علاقة ضعيف ولكنها مهمة بين مستوى Ag HBs والحمل الفيروسي لـ VHB. ( $r = 0,4$  ;  $P < 0,0001$ )

و في حالة المرضى المعالجين من المتوقع أن يتنبأ ال Ag HBs إلى تطور المرضى و إلى الاستجابة للعلاج، وهناك حاجة إلى متابعة طويلة الأمد لتأكيد دوره.

قياس ال Ag HBs هو علامة متابعة جديدة من التهاب الكبد B المزمن المرتبط بالحمل الفيروسي, ما زال التفسير صعبًا في بعض المواقف، ومن ثم الحاجة إلى مزيد من الدراسات وعينات أكبر.

**الكلمات المفتاحية:** الالتهاب الكبدي الفيروسي ، VHB ، قياس معدل ال Ag HBs ، PCR في الوقت الحقيقي

## Glossaire

**Aborigène** : ce sont les premiers hommes à avoir habité l'Australie. Ils l'habitaient toujours lorsque les Européens ont débarqué, et l'habitent encore aujourd'hui (**Bosa, 2012**).

**Anticorps monoclonal** : Anticorps produit par un seul clone de lymphocyte B descendant d'une seule et unique cellule mère et ne détectant généralement qu'un seul déterminant antigénique (**Clos, 2012**).

**Carcinome hépatocellulaire** : Le CHC est la tumeur maligne primitive du foie la plus fréquente, représentant 90 à 95% de l'ensemble de ces tumeurs chez l'adulte. Il s'agit le plus souvent, d'un CHC compliquant une cirrhose préexistante. Plus rarement, il peut survenir sur foie sain, ou encore sur foie avec fibrose (**Boige et Dominguez-Tinajero, 2006**).

**Charge virale** : Il s'agit du nombre d'unités virales présentes dans le sang permettant d'évaluer la multiplication des virus dans l'organisme (**Thomas et Patrick, 2009**).

**Cirrhose** : régénération anarchique du foie qui se rétrécit et se durcit en raison d'une cicatrisation irréversible (**Thomas et Patrick, 2009**).

**Fibrose hépatique** : c'est un processus central des maladies chronique du foie, dont le stade ultime est la cirrhose et qui implique des altérations structurelles et fonctionnelles de cet organe (**Taibi et Guéchet, 2017**).

**Séroconversion** : Modification d'une ou de plusieurs des caractéristiques d'un sérum ; par exemple apparition ou disparition d'un anticorps qui, auparavant, été absent ou présent dans ce sérum (**Delmare, 2006**).

**Transaminase** : enzymes principalement localisées dans le foie, détectables dans une prise de sang, dont l'élévation du taux est le signe d'une inflammation du foie (**Thomas et Patrick, 2009**).

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure</b>	<b>Titre des figures</b>	<b>Page</b>
<b>Figure 1</b>	Structure du virus de l'hépatite B	<b>2</b>
<b>Figure 2</b>	Structure des particules virales (Dane) et sous-virales (sphère et filament) du VHB	<b>3</b>
<b>Figure 3</b>	Organisation génétique du génome viral	<b>4</b>
<b>Figure 4</b>	Cycle de réplication virale du VHB	<b>6</b>
<b>Figure 5</b>	Prévalence du VHB dans le monde	<b>9</b>
<b>Figure 6</b>	Histoire naturelle de l'hépatite B	<b>12</b>
<b>Figure 7</b>	Évolution des marqueurs au cours de l'hépatite B aiguë résolutive	<b>15</b>
<b>Figure 8</b>	Évolution des marqueurs au cours de l'infection chronique par le virus de l'hépatite B	<b>16</b>
<b>Figure 9</b>	Principe de l'ELISA sandwich	<b>26</b>
<b>Figure 10</b>	Principe de la PCR quantitative en temps réel avec la sonde TaqMan	<b>28</b>
<b>Figure 11</b>	Le suivi en temps réel d'une réaction PCR	<b>30</b>

<b>Figure 12</b>	Répartition des patients porteurs chroniques en fonction du sexe	<b>31</b>
<b>Figure 13</b>	Distribution des porteurs chroniques du VHB selon la tranche d'âge	<b>32</b>
<b>Figure 14</b>	Répartition des patients traités et non traités selon le statut HBe	<b>33</b>
<b>Figure 15</b>	Classification des porteurs chroniques non traités selon les taux d'Ag HBs et l'ADN du VHB	<b>34</b>
<b>Figure 16</b>	Corrélation entre le taux d'Ag HBs et la charge virale du VHB	<b>36</b>

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableaux</b>	<b>Titre des tableaux</b>	<b>Page</b>
<b>Tableau I</b>	Les gènes de VHB et les protéines virales codées.	<b>5</b>
<b>Tableau II</b>	Principaux profils sérologiques de l'histoire naturelle de l'hépatite B.	<b>14</b>
<b>Tableau III</b>	Matériel non biologique pour l'étude sérologique et moléculaire.	<b>22</b>
<b>Tableau IV</b>	Répartition des porteurs chroniques selon le sexe.	<b>31</b>
<b>Tableau V</b>	Répartition des porteurs chroniques du VHB selon Le statut HBe.	<b>33</b>
<b>Tableau VI</b>	Répartition des porteurs chroniques traités selon les taux de l'Ag HBs	<b>35</b>

## LISTE DES ABREVIATIONS

**Ac:** Anticorps

**Ac Anti Hbe:** Anticorps dirigés contre la protéine "e" du virus de l'hépatite B

**Ac Anti HBs:** Anticorps dirigés contre la protéine "s" du virus de l'hépatite B

**Ac anti-HBc IgG:** Anticorps totaux dirigés contre la protéine du core du virus de l'hépatite B de type immunoglobuline G

**Ac anti-HBc IgM:** Anticorps dirigés contre la protéine du core du virus de l'hépatite B de type immunoglobuline M

**ADN :** Acide Désoxyribonucléique

**ADN rc :** ADN relâché circulaire

**ADNccc :** ADN circulaire covalentiellement clos

**Ag :** Antigène

**Ag HBc :** Antigène de la capsid "c" du virus de l'hépatite B

**Ag Hbe :** Antigène de l'enveloppe "e" du virus de l'hépatite B

**Ag HBs :** Antigène de surface "s" du virus de l'hépatite B

**ALAT :** Alanine amino-transférase

**ARN :** acide ribonucléique

**ARNm :** Acide ribonucléique messenger

**ARNpg :** ARN pré-génomique

**CHC :** Carcinome hépatocelulaire

**CMIA :** Chemiluminescent Microparticle Immunoassay (Dosage Immunologique par Chimiluminescence)

**Ct :** Cycle seuil

**CV :** Charge Virale

**DO:** Densité optique

**EASL:** European Association Study of Liver

**EDTA:** Ethylène Diamine Tétra-Acétique

**ELISA:** Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (Test immunoenzymatique)

**HAS:** Haute Autorité de Santé

**HBx:** Protéine x du virus de l'hépatite B

**IFN:** Interféron

**IFN-PEG:** Interféron pégylé

**Ig:** Immunoglobuline

**IST:** Infections Sexuellement Transmissibles

**kb:** kilo base

**kDa:** kilo Dalton

**OMS:** Organisation Mondiale de la Santé

**Pb:** Paire de base

**PCR:** Polymerase chain reaction (Réaction de polymérase en chaîne)

**QS:** Quantification Standard (Standard de quantification)

**RT:** Reverse transcriptase (transcriptase inverse)

**UI:** Unité Internationale

**URL:** Unité relative de lumière

**VHB:** Virus de l'hépatite B

**VHC:** Virus de l'hépatite C

**VIH:** Virus de l'immunodéficience humaine

**WHO:** World Health Organization

# SOMMAIRE

<b>Introduction.....</b>	<b>1</b>
--------------------------	----------

## **Chapitre I : Synthèse bibliographique**

<b>1 Historique.....</b>	<b>2</b>
<b>2 Le virus de l'hépatite B.....</b>	<b>2</b>
2.1 Les particules virales du virus de l'hépatite B.....	3
2.2 Organisation génomique.....	4
2.3 Les protéines virales.....	5
2.4 Cycle de réplication du virus de l'hépatite B.....	6
<b>3 Epidémiologie du virus.....</b>	<b>7</b>
3.1 Modes de transmission.....	7
3.2 Répartition géographique.....	8
<b>4 Histoire naturelle de l'hépatite B virale.....</b>	<b>9</b>
4.1 Hépatite aiguë.....	9
4.2 Hépatite chronique.....	10
<b>5 Diagnostic virologique et suivi de l'hépatite B.....</b>	<b>13</b>
5.1 Marqueurs sériques de l'hépatite B.....	13
5.2 Diagnostic de l'hépatite aiguë.....	14
5.3 Diagnostic de l'hépatite chronique.....	15
<b>6 Traitements et prévention de l'hépatite B.....</b>	<b>16</b>
6.1 Traitements.....	16
6.2 Prévention.....	17
<b>7 Apport de la mesure de l'Ag HBs dans le suivi de l'hépatite B chronique.....</b>	<b>18</b>

7.1	Le taux de l'Ag HBs et histoire naturelle.....	18
7.2	Prédiction de la réponse au traitement.....	19

## **Chapitre II : Matériel et méthodes**

<b>1</b>	<b>Matériel.....</b>	<b>1</b>
1.1	Matériel biologique.....	21
1.2	Matériels non biologique.....	22
<b>2</b>	<b>Méthodes d'analyses.....</b>	<b>23</b>
2.1	Tests sérologiques.....	23
2.2	Test moléculaire.....	27

## **Chapitre III : Résultats et discussion**

<b>1</b>	<b>Résultats.....</b>	<b>31</b>
1.1	Répartition des cas selon le sexe.....	31
1.2	Répartition des cas selon les tranches d'âge.....	32
1.3	Répartition des cas selon le statut HBe .....	33
1.4	Répartition des cas selon les taux d'Ag HBs et de l'ADN du VHB.....	34
1.5	Corrélation entre le taux de l'Ag HBs et la charge virale du VHB.....	35
<b>2</b>	<b>Discussion.....</b>	<b>37</b>
	<b>Conclusion.....</b>	<b>41</b>

### **Références bibliographiques**

### **Annexes**

## Introduction

L'hépatite B est une infection hépatique potentiellement mortelle causée par le virus de l'hépatite B (VHB). Elle représente un problème de santé publique majeur, elle peut prendre une forme chronique et exposer les malades à un risque important de décès par cirrhose et cancer hépatique. Ce virus se transmet par contact avec le sang ou d'autres fluides corporels provenant d'une personne infectée.

Dans le monde, deux milliards de personnes présentent des marqueurs d'infection passée ou présente par VHB. Les nouvelles données de l'organisation mondiale de santé (OMS) révèlent que selon les estimations 248 millions de personnes souffrent d'une infection chronique par le virus de l'hépatite B.

Malgré l'existence d'un vaccin efficace à 95% dans la prévention de l'infection et du développement d'une hépatite chronique et d'un cancer du foie dû à l'hépatite B, on estime environ 686 000 décès par an (**WHO, 2017**).

L'antigène de surface du virus de l'hépatite B (Ag HBs) est le marqueur qualitatif sérologique utilisé pour le diagnostic d'une infection par le VHB et sa persistance pendant plus de six mois définit l'hépatite chronique. La mesure du taux de cet antigène a été évoquée il y a plusieurs années, la disponibilité récente de techniques de dosage quantitatif de l'Ag HBs a permis de suggérer l'intérêt de ce marqueur dans le suivi des patients infectés par le VHB. Plusieurs études ont montré une variation du titre de l'Ag HBs au cours des différentes phases de l'histoire naturelle du VHB (**Bouthry et al, 2012**).

Cette étude a été menée sur des patients souffrant d'une hépatite B chronique, le diagnostic sérologique de cette infection a été effectué via les techniques immunologiques incluant les méthodes CMIA et l'ELISA. La mesure du taux de l'Ag HBs a été réalisée par CMIA, tandis que la détection et la quantification (mesure de la charge virale) du génome viral (ADN-VHB) a été réalisée par une technique sensible et spécifique qui est la PCR en temps réel.

La mesure de la charge virale est indispensable dans la surveillance, le suivi et la décision thérapeutique. Elle définit également la réponse virologique au traitement.

L'objectif de notre étude est de voir s'il existe ou non une corrélation entre la charge virale du virus de l'hépatite B et le taux de l'antigène de surface (Ag HBs).

## 1. Historique

En 1964, un nouvel antigène (dit antigène Australia) est détecté dans le sérum d'un aborigène australien par Blumberg ; très rapidement, l'équipe de Blumberg et Prince montrent que cet antigène est un marqueur d'une hépatite virale post-transfusionnelle, dite hépatite B.

En 1975, l'équipe de Maupas, publie les premiers résultats d'une vaccination contre Le virus de l'hépatite B (VHB) en utilisant comme source vaccinale l'antigène Australia (désigné sous le sigle Ag HBs) purifié à partir de plasma de porteurs chroniques (**Maupas *et al.*, 1976**).

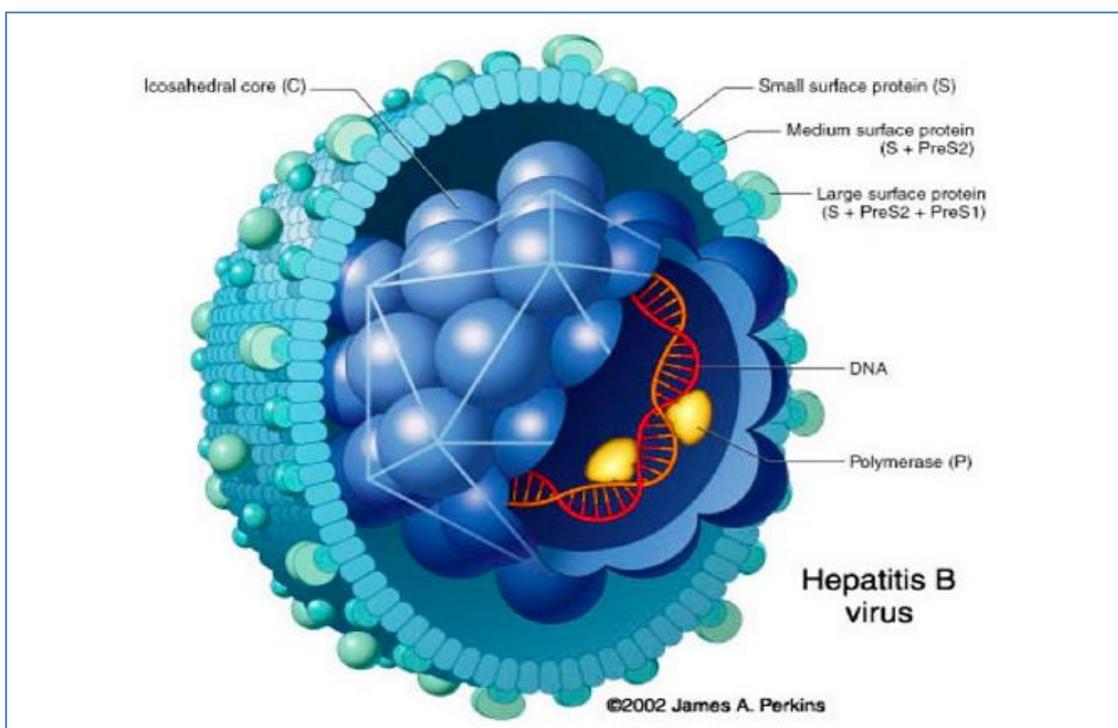
En 1986, le premier vaccin mondial contre l'hépatite B obtenu par génie génétique est commercialisé (**Huraux *et al.*, 2003**).

## 2. Le virus de l'hépatite B

Le virus de l'hépatite B (VHB) appartient à la famille des *Hepadnaviridae*, au Genre Orthohepadnavirus (**Schaefer, 2007**),

C'est un virus enveloppé à capsidre icosaédrique (figure 1) (**Goffard, 2012**),

Ce virus infecte de façon productive les hépatocytes, les principales cellules du foie, et se réplique par transcription inverse d'un ARN viral redondant, « le pré-génome » (**Seeger et Mason, 2015**).



**Figure 1** : Structure du virus de l'hépatite B (**Goffard, 2012**).

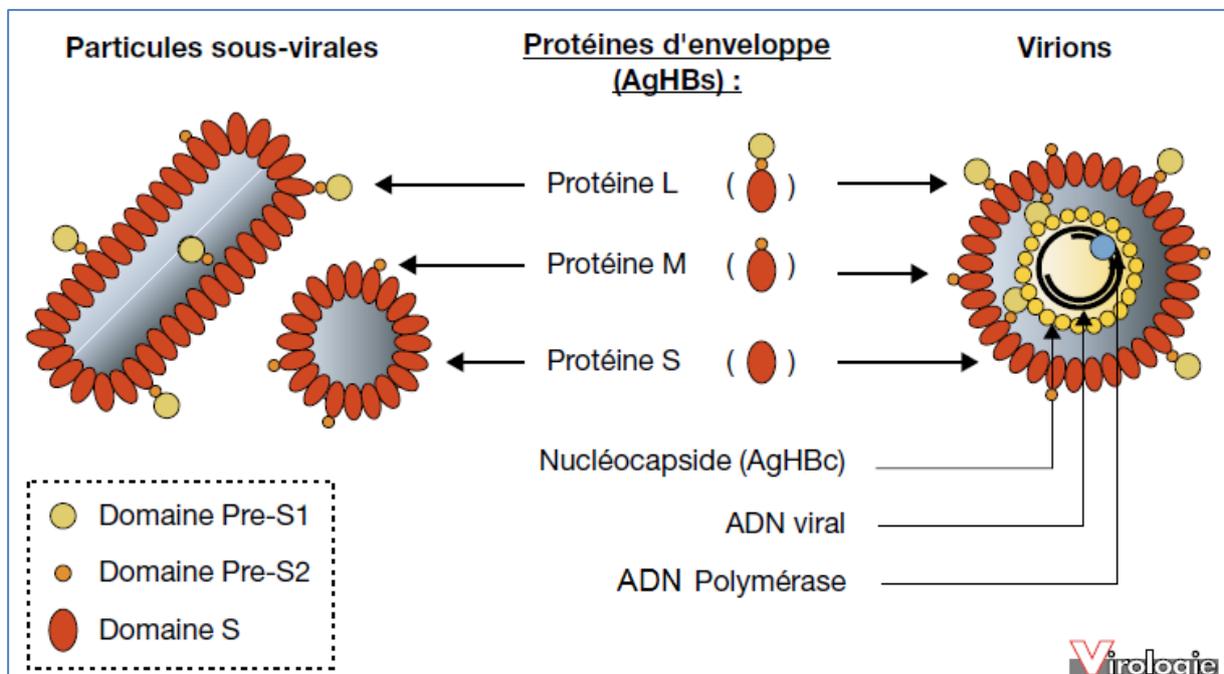
## 2.1. Les particules virales du virus de l'hépatite B

Les particules virales identifiées dans le sérum d'un sujet infecté sont de deux types :

1. Des particules virales infectieuses de 42 nm, appelées particules de Dane constituées d'une enveloppe lipoprotéique sur laquelle sont ancrés trois glycoprotéines virales portant le déterminant de l'antigène de surface (Ag HBs) (**Dane *et al.*, 1970**).

Cette enveloppe entoure une nucléocapside de 28 nm portant l'antigène de capside (Ag HBc), Elle est constituée d'environ 200 molécules de protéines de capsides et dans laquelle se trouve le génome du virus sous forme d'un ADN circulaire et partiellement bicaténaire (figure 2) (**Soussan et Le Pendeven, 2010**).

2. Des particules sous-virales non infectieuses, d'un diamètre de 22 nm et existent sous deux formes : sphérique ou filamenteuse (**Segondy, 2005**).  
Ces particules sont vides et composées uniquement d'une enveloppe lipidique dans laquelle sont insérées les protéines virales de surface. Elles sont produites en large excès dans le sérum des malades infectés (**Kay *et al.*, 2004**)



**Figure 2 :** Structure des particules virales (Dane) et sous-virales (sphère et filament) du VHB (**Lepère-Douard et Gripon, 2010**).

## 2.2. Organisation génomique

Le VHB présente un génome à ADN d'environ 3 200 paires de bases nucléotidiques ce qui fait de lui le plus petit virus animal à ADN connu (Soussan et Le Pendeven, 2010).

Il est composé d'un brin complet (brin L ou brin moins), La polymérase virale est attachée de manière covalente à son extrémité 5', et d'un brin incomplet (brin S ou brin plus), L'extrémité 5' du brin plus chevauche les deux extrémités du brin moins, assurant ainsi la circularité du génome ; On aura alors un ADN circulaire mais relâché qui est appelé « ADN RC ».

Ce dernier possède quatre gènes ouverts: S, C, P et X qui sont tous situés sur le brin plus et ils sont chevauchants, codant en fait pour des protéines virales distinctes (figure 3)

(Zoulim *et al.*, 2006).

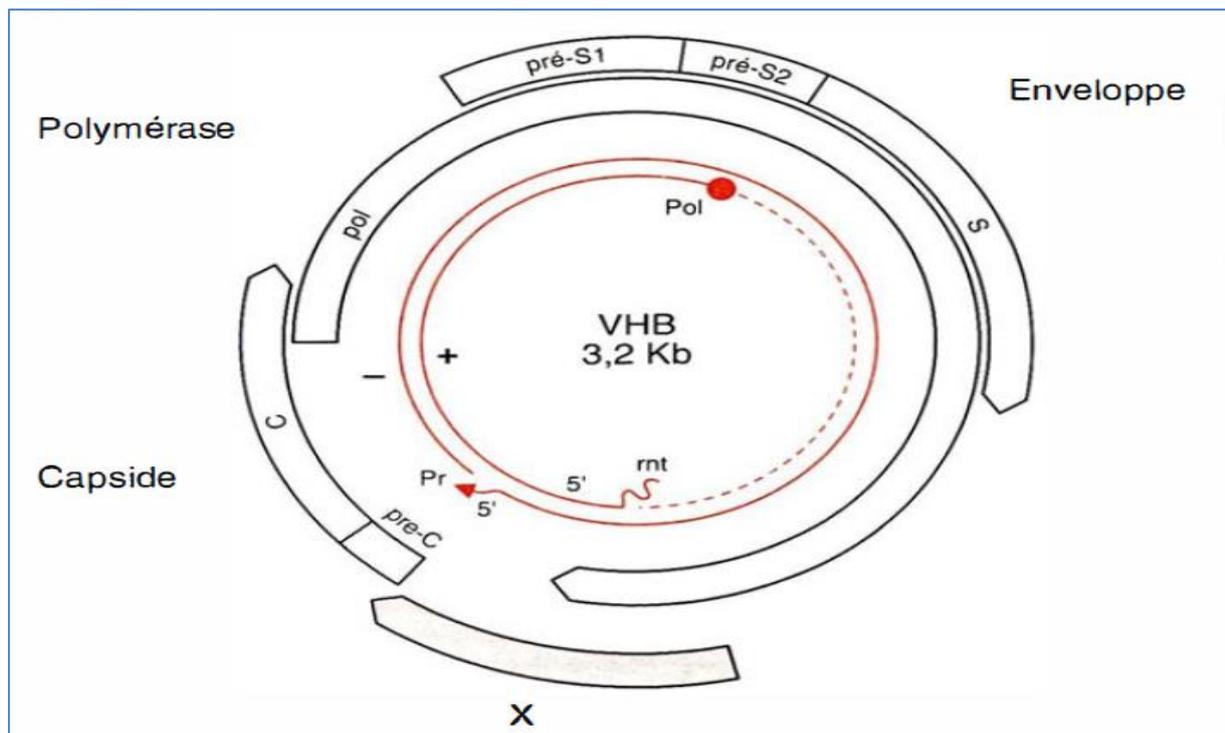


Figure 3 : Organisation génétique du génome viral (Elfassi, 1992).

### 2.3. Les protéines virales

Les protéines virales leurs gènes ainsi que leurs fonctions sont représentées dans le tableau I

**Tableau I :** Les gènes de VHB et les protéines virales codées (Zoulim *et al.*, 2006 ; Bruss, 2007 ; Nassal, 2008 ; Patient *et al.*, 2008 ; Soussan et Le Pendeven, 2010 ; Andrisani, 2013).

Gènes	Protéines codées	Fonctions	Anticorps détectés dans le sérum
<b>C : Core</b>	Code pour une protéine de 22 kDa, qui forme la capsid du virus, l'AgHBc	Rôle immunogène, l'Ag HBc contient des sites de localisation nucléaire, ce qui permet de diriger l'ADN viral vers le noyau lors de l'infection d'un hépatocyte.	Anti-HBc
<b>PréC/C :</b>	Code une protéine de 25 kDa, qui après maturation donne une protéine 17kDa, l'AgHBe	Semble être intimement liée à la phase de réplication active du virus.	Anti-HBe
<b>S : Surface</b>	code pour une protéine de 24 et de 27 kDa, l'Ag HBs	Structure de l'enveloppe est très riche en protéine S	Anti-HBs
<b>PréS2 +S :</b>	code pour une protéine de de 33 et 37 kDa Ag HBs/préS2	Protéine M, n'est pas essentielle pour la morphogenèse des particules virales.	/
<b>PréS1+PréS2+S</b>	: code pour une protéine de 39 et 42kDa, l'AgHBs/préS2/préS1	Protéine L, permet la reconnaissance des hépatocytes.	/
<b>P : Polymérase</b>	code pour une protéine de 92 kDa, la polymérase virale.	C'est à la fois une polymérase ARN-dépendante (transcriptase inverse) et ADN-dépendante (ADN polymérase).	Non recherché
<b>X :</b>	Code pour une protéine X de 17 kDa, l'AgHBx	important dans la réplication du VHB. A un effet transactivateur sur de nombreux gènes cellulaires dont des oncogènes.	Ac anti-HBx

## 2.4. Cycle de réplication du virus de l'hépatite B

La réplication virale est un élément capital dans la décision thérapeutique pour l'hépatite B (Wagner *et al.*, 2004), elle nécessite une étape de rétro-transcription pour répliquer son génome (Moussard, 2005). Elle se déroule comme suite (figure 4) :

- Attachement et interaction du virus avec la membrane de l'hépatocyte puis pénétration par des mécanismes d'endocytose et de fusion membranaire.
- Décapsidation et libération du génome dans le noyau, et est complété en ADN bicaténaire clos (ADN circulaire covalentiellement clos ou ADNccc) (super-enroulement) grâce à l'ADN polymérase virale (par allongement des brins et ligature).
- Transcription de l'ADN virale en ARNm et en ARNpg via l'ARN polymérase cellulaire, puis synthèse des protéines virales et de l'Ag HBs.
- Formation de la nucléocapside et intégration de l'ARNpg avec l'ADN polymérase virale puis initiation de la synthèse de l'ADN.
- L'ADN polymérase exerce cette fois une activité rétrotranscriptase qui synthétise le brin long de polarité négative. Après dégradation de la matrice d'ARN, la synthèse du brin court à polarité positive a lieu, partiellement, car elle est interrompue lorsque l'enveloppe recouvre la capside.
- La nucléocapside est enveloppée et libérée par exocytose (Billioud *et al.*, 2010 ; Lebossé et Zoulim, 2012 ; Marie-Louise, 2014).

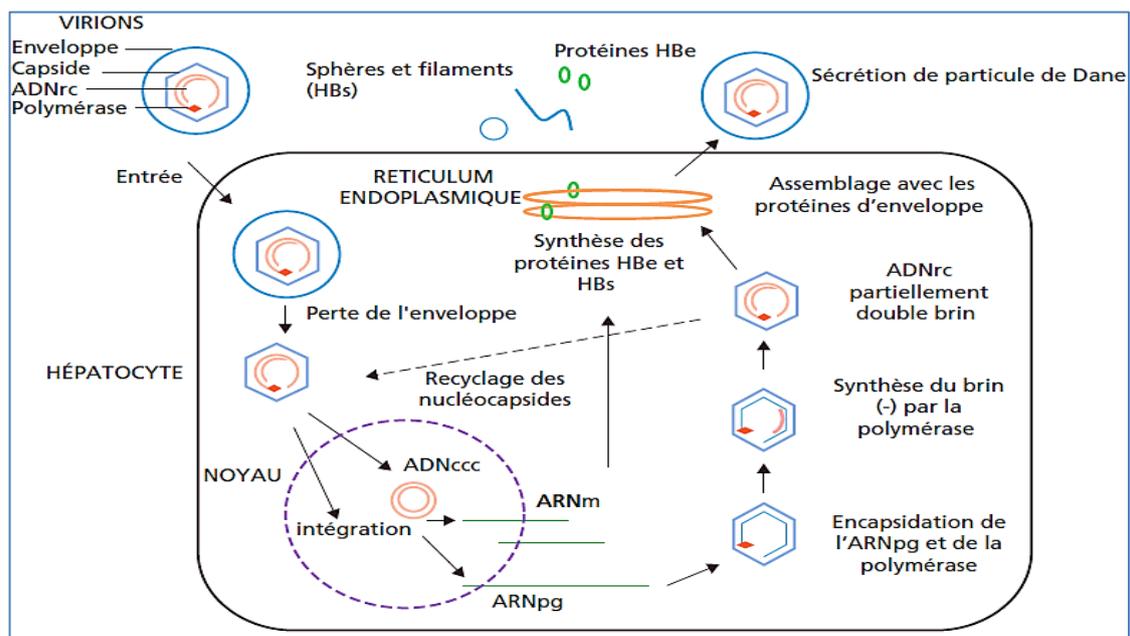


Figure 4: Cycle de réplication virale du VHB (Lebossé et Zoulim, 2012)

### 3. Epidémiologie du virus

#### 3.1. Modes de transmission

Le VHB est très contagieux, environ 100 fois plus que le VIH et 10 fois plus que le VHC (**Hureauux et al., 2003**). Chez un sujet infecté, le virus de l'hépatite B est présent dans de nombreux liquides ou sécrétions ce qui introduit la notion de réservoir viral (**Kidd-Ljunggren et al., 2006**).

La transmission du VHB se fait principalement par le sang et ses dérivés, ainsi que par les autres liquides biologiques aussi bien au milieu professionnel qu'extra professionnel.

Quatre modes distincts de transmission ont été définis par l'OMS (**OMS, 2012**), dont trois à risque élevé :

#### A. Transmission à risque élevé

- ❖ **Transmission parentérale** : Le VHB peut se transmettre chez les usagers de drogue, par voie intraveineuse ou per-nasale, lors de l'échange de matériel d'injection infecté. Il peut aussi être transmis lors de soins dentaires, la chirurgie et l'hémodialyse.

Egalement, ce mode de transmission peut toucher le personnel soignant, lors d'accidents d'exposition au sang.

Les piercings et les tatouages pratiqués sans respect des règles de stérilisation du matériel utilisé, peuvent constituer un mode de transmission d'individu à individu sur le mode parentéral (**Buffet, 2005 ; Catrice, 2009**).

- ❖ **Transmission sexuelle** : Dans les pays à bas niveau de vie, le mode principal de contamination est sexuel (hétéro ou homosexuel), lié à la présence du VHB dans le liquide séminal et les sécrétions vaginales. Le risque de contamination par voie sexuelle peut varier de 30 à 80% pour le VHB et 0.1 à 10% pour le VIH (**Buffet, 2005**).
- ❖ **Transmission périnatale** : La transmission de mère atteinte d'une infection chronique à son nouveau-né se produit habituellement au moment de la naissance. Les enfants nés de mère Ag HBs positif qui n'ont pas été infectés pendant la période périnatale ont un haut risque d'infection durant l'enfance, s'ils ne sont pas vaccinés à la naissance (**Catrice, 2009**). Ce risque est devenu faible grâce au dépistage de l'Ag HBs chez la femme enceinte au 6<sup>e</sup> mois de la grossesse (**Zarski, 2006 ; Vernay-Vaisse et al., 2016**).

## **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 (enfants, handicapés, milieu psychiatrique). Elle résulte le plus souvent du partage d'instruments contaminés tels que les brosses à dents, rasoirs, coupe-ongles etc... (**Buffet, 2005**).

### **3.2. Répartition géographique**

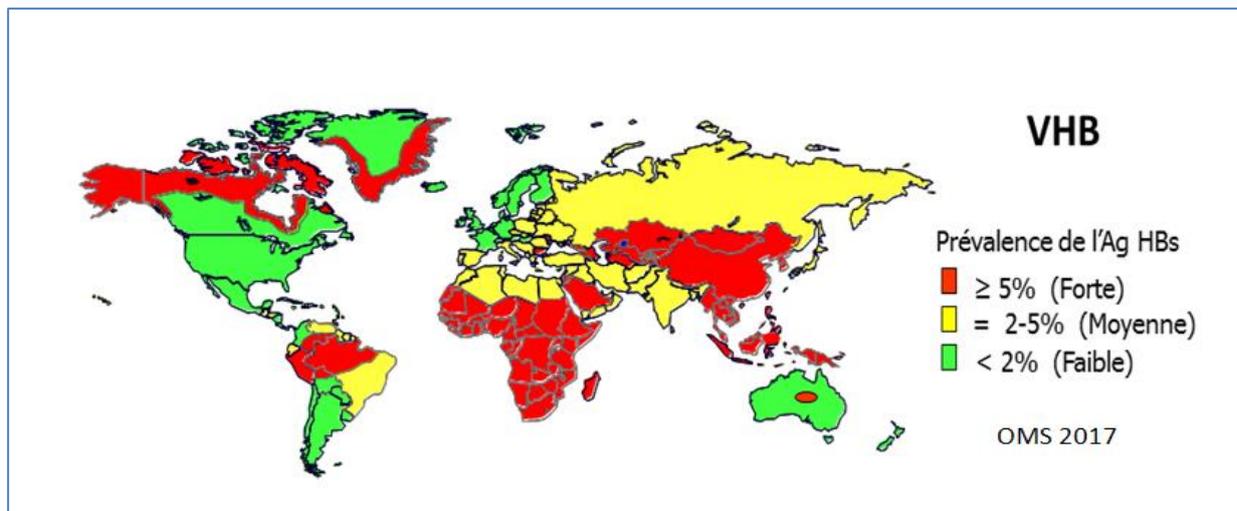
L'infection par le VHB est une pandémie. Certaines régions du monde sont plus touchées : ce sont des régions de forte prévalence (**Goffard, 2012**).

D'après l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), deux milliards de personnes sur la planète ont été en contact avec le virus de l'hépatite B à un moment donné de leur vie, et suite à cette rencontre 248 millions seraient ainsi devenus porteurs chroniques.

Trois zones peuvent être distinguées en fonction de la prévalence de l'Ag HBs au sein de la population (figure 5) :

- ✓ Une zone de faible endémie où la prévalence de l'Ag HBs est inférieure à 2 % est observée dans des régions telles que l'Amérique centrale, l'Amérique du Nord et l'Europe occidentale
- ✓ Une zone de moyenne endémie avec une prévalence comprise entre 2 % et 5 % (Europe de l'Est, Russie, Proche-Orient et les pays méditerranéens (dont l'Algérie)).
- ✓ Une zone de forte endémie avec une prévalence supérieure à 5 % est observée en Afrique subsaharienne (ASS), en Asie de l'Est, dans certaines parties des Balkans, dans les îles du Pacifique et en Amazonie sud-américaine (**WHO, 2017**).

Dans l'ensemble, près de la moitié de la population mondiale vit dans des zones d'endémicité élevée et intermédiaire.



**Figure 5** : Prévalence du VHB dans le monde (WHO, 2017)

#### 4. Histoire naturelle de l'hépatite virale B

L'histoire naturelle de l'hépatite chronique B est complexe, passant par différentes phases (figure 6), et sa connaissance est importante, car elle joue un rôle fondamental dans la prise en charge du malade, notamment pour la décision d'instauration du traitement antiviral (**Hézode, 2010**).

##### 4.1. Hépatite aiguë

L'hépatite B aiguë se caractérise par une période d'incubation de 1 à 3 mois et se présente sous différentes formes :

- Une forme asymptomatique ou anictérique dans 70% des cas environ.
- Une forme symptomatique dans 30% des cas environ. La maladie commence par une altération de l'état général, légère fièvre, des douleurs, le tout évoquant un état grippal ainsi que des troubles digestifs, une perte d'appétit, des nausées, des vomissements. L'ictère apparaît plus tard permettant d'affirmer le diagnostic (**Goffard, 2012**), il dure environ deux à trois semaines et l'activité des transaminases est constamment élevée, dépassant habituellement dix fois la normale (**Hézode, 2010**).

La proportion de cas symptomatiques de l'hépatite aiguë B augmente avec l'âge au moment de la contamination (**Pol, 2006**), alors que le risque de passage à une infection chronique diminue (**Asselah et al., 2008**).

Parfois l'hépatite aiguë peut prendre un aspect fulminant qui correspond à la destruction massive et rapide des hépatocytes infectés par le VHB, évoluant vers l'insuffisance hépatocellulaire en quelques jours (Zoulim *et al.*, 2006). Cette forme est fatale dans la plupart des cas et la seule alternative possible est de pratiquer une transplantation rapide du foie (Asselah *et al.*, 2008).

L'évolution favorable de l'hépatite aiguë est annoncée par la normalisation des transaminases, par la disparition de l'Ag HBs et de l'Ag HBe, enfin par l'apparition successive des Ac anti-HBe et anti-HBs (Huraux *et al.*, 2003).

## **4.2. Hépatite chronique**

La plupart des hépatites aiguës sont spontanément résolutive avec apparition de marqueurs de guérison. Certaines évoluent néanmoins vers la chronicité. On parle d'hépatite chronique pour désigner les atteintes inflammatoires hépatiques évoluant sans amélioration pendant plus de six mois ; le terme de portage chronique traduit la persistance de l'Ag HBs au-delà de cette durée de six mois, indépendamment de la présence éventuelle de lésion hépatiques (Hureaux *et al.*, 2003).

### **4.2.1. Phase d'immunotolérance**

La phase d'immunotolérance est caractérisée par (EASL, 2009 ; Biomnis, 2012):

- La positivité de l'Ag HBe.
- Un haut niveau de réplication virale (reflété par une forte charge virale du VHB).
- Une activité normale ou basse des transaminases.
- Lésions hépatiques minimales ou absentes et une progression de la fibrose hépatique nulle ou lente.

Cette première phase est plus fréquente et plus prolongée chez des sujets infectés durant la période néonatale ou dans les premières années de la vie.

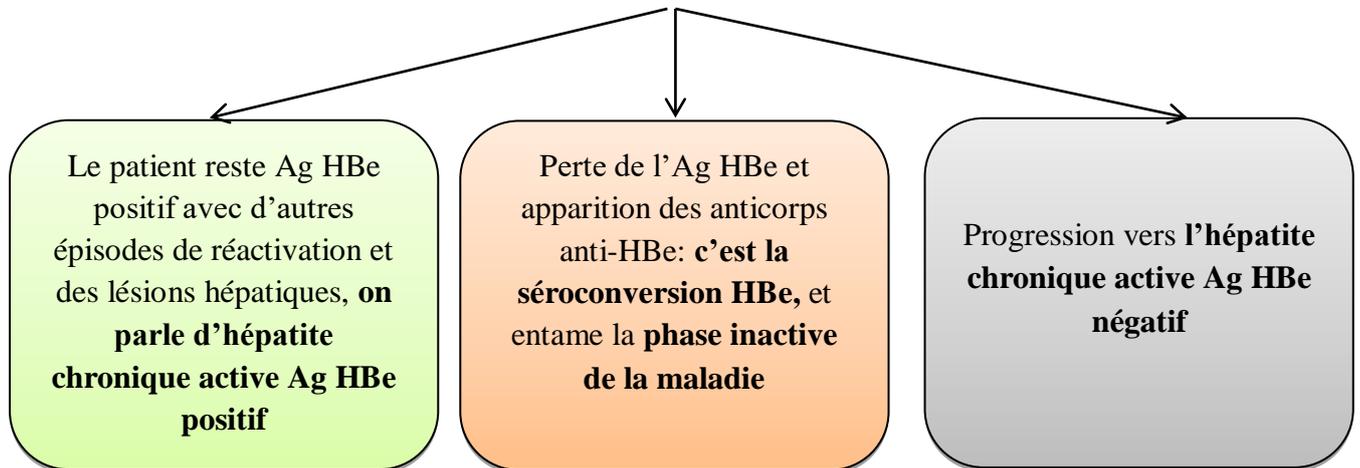
### **4.2.2. Phase de clairance immune**

La phase de clairance immune est caractérisée par (EASL, 2009) :

- La positivité de l'antigène HBe.
- Un taux plus bas de réplication virale (reflété par une charge virale plus basse).
- Une activité des transaminases augmentée ou fluctuante.

- Lésions hépatiques modérées à sévères et une progression plus rapide de la fibrose hépatique par rapport à la phase précédente.
- Cette phase peut durer de plusieurs semaines à plusieurs années.

### Trois types d'évolution sont possibles :



#### 4.2.3 Phase de portage inactif

Au cours du temps on observe la diminution progressive du niveau de la réplication virale, et la disparition de l'Ag HBe associée à l'apparition des Ac anti-HBe (**Biomnis, 2012**), ainsi que la normalisation des transaminases et l'absence des lésions histologiques (**Hureauux et al., 2003 ; Hézode, 2010**). Par ailleurs, en l'absence de clairance de l'Ag HBs, une phase de réactivation associée à des taux fluctuants d'ADN du VHB et d'ALAT, et un risque d'aggravation de la fibrose peut être observée. Ces épisodes de réactivation virale peuvent être spontanés ou favorisés par un état d'immunosuppression, et sont observés chez 20 à 30 % des malades (**Hézode, 2010 ; Soussan et Le Pendeven, 2010 ; HAS, 2017**).

#### 4.2.4 Phase d'hépatite chronique active

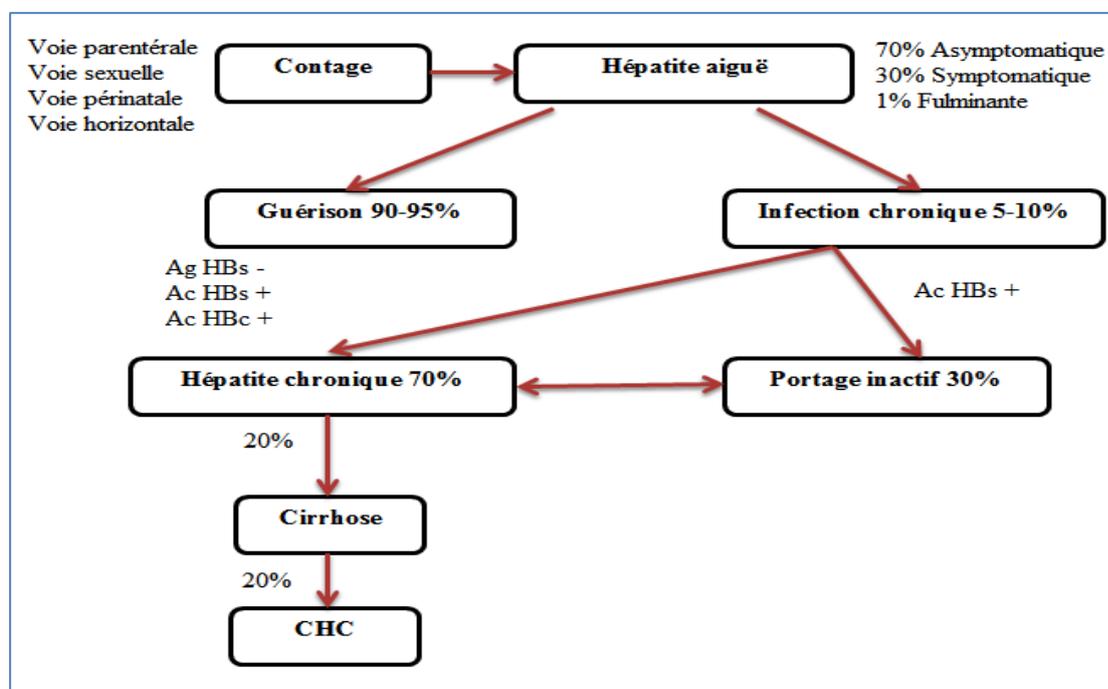
Durant l'hépatite chronique active le système immunitaire entre en action et le conflit entre la réplication et la réponse immune de l'organisme aboutit à la constitution de lésions chroniques nécro-inflammatoires du foie, l'Ag HBe, marqueur de réplication est positif et la charge virale est importante (**Zoulim et al., 2006**).

L'hépatite chronique à Ag HBe négatif peut suivre la phase de clairance immunitaire en cas de séroconversion HBe, elle représente une phase plus tardive dans l'histoire naturelle de l'hépatite chronique B. Elle se caractérise par des périodes de réactivation avec un taux

fluctuant d'ADN du VHB et des transaminases. Ces malades sont antigène HBe négatif et ont des variants du VHB avec des substitutions nucléotidiques au niveau de la région pré-C et/ou du promoteur de la région C du génome viral. Ces variants sont incapables d'exprimer, ou expriment à très faible niveau l'antigène HBe. L'hépatite chronique B antigène HBe négatif a un faible taux de rémission spontanée. Cependant, il est parfois difficile de distinguer un malade porteur inactif d'un malade ayant une hépatite chronique B à virus mutant, ces derniers ont un haut risque de progression vers la fibrose hépatique, la cirrhose, et le CHC (EASL, 2009 ; Hézode, 2010), Seul un suivi étroit de ces malade par des dosages de transaminases et de charge virale B tous les trois mois, permettra de distinguer ces deux entités (Asselah *et al.*, 2008).

#### 4.3.5 Phase d'Ag HBs négatif :

La perte spontanée de l'Ag HBs correspond à la dernière phase, mais c'est un événement rare au cours de l'histoire naturelle de l'hépatite B chronique 0,5 à 0,8% par an, elle confère une amélioration du pronostic des malades avec une réduction du risque de cirrhose et de CHC. Après perte de l'Ag HBs, un faible niveau de réplication du VHB peut persister avec un ADN du VHB détectable dans le foie (EASL, 2009 ; Bouthry *et al.*, 2012).



**Figure 6 :** Histoire naturelle de l'hépatite B (Pol, 2005 ; Bertholom, 2016).

## 5. Diagnostic virologique et suivi de l'hépatite B

### 5.1. Marqueurs sériques de l'hépatite B

Le diagnostic sérologique de l'infection par VHB est basé sur la détection des différents antigènes et anticorps du virus. Ces marqueurs trouvent leur utilité dans plusieurs circonstances (Chevaliez, 2008) :

- ✓ Lors du dépistage de l'hépatite B, et en cas d'hépatite aiguë, trois marqueurs doivent être recherchés : Ag HBs, Ac anti-HBc totaux et les Ac anti-HBs ;
- ✓ Lors du diagnostic et de la prise en charge thérapeutique d'une hépatite chronique.

Quatre marqueurs doivent être recherchés : Ag HBs, Ag HBe, Ac anti-HBc, Ac anti-HBe, associés à la quantification de l'ADN du VHB (Biomnis, 2012).

#### 5.1.1. Marqueurs directs

- ✓ **L'AgHBs** : C'est l'antigène de surface du virus et le marqueur d'infection par le VHB.
- ✓ **L'Ag HBe** : C'est le marqueur de réplication du VHB dans le sang, sauf en cas de mutant pré-C (Ag HBe négatif) ou la PCR devient le seul témoin de la réplication.
- ✓ **ADN du VHB** : C'est le marqueur de présence des virions, la PCR en temps réel permet sa quantification dont le seuil de détection est de 10 à 20 UI/ml.

#### 5.1.2. Marqueurs indirects

- ✓ **Ac anti-HBs** : Leur présence signe l'arrêt de la réplication virale, soit la guérison ou plutôt la résolution de l'infection après disparition de l'Ag HBs. Ou bien une protection post-vaccinale (seul marqueur VHB présent dans ce cas).
- ✓ **Ac anti-HBc (IgM et IgG)** : Témoin du contact avec le virus de l'hépatite B. Les IgG persistent toute la vie tandis que les IgM ne sont détectés qu'en cas d'hépatite B aiguë ou de réactivation virale.
- ✓ **Ac anti-HBe** : Marqueurs de fin de la réplication active du VHB dans le cas d'une hépatite B aiguë résolutive. Son absence avec persistance de l'Ag HBs fait craindre une évolution vers la chronicité. Leur recherche permet d'observer la séroconversion anti-HBe (confirmant la disparition de l'Ag HBe).

### 5.1.3. Les différents profils sérologiques

Les principaux profils au cours l'histoire naturelle de l'hépatite B sont représentés dans le tableau II.

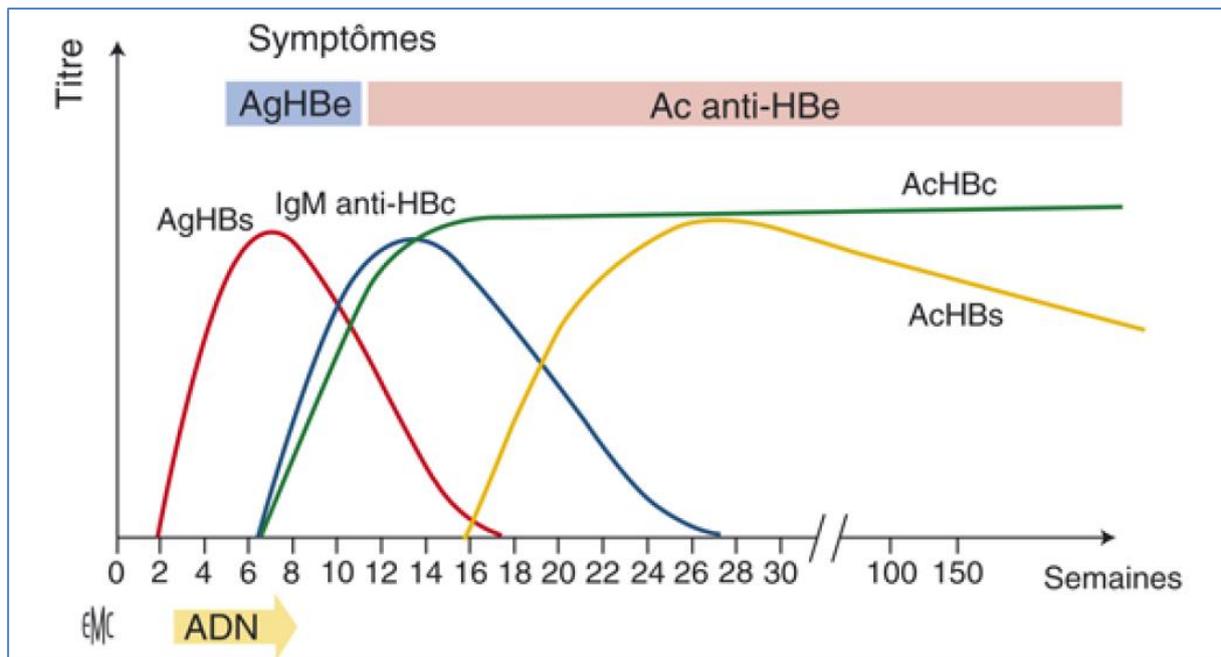
**Tableau II:** Principaux profils sérologiques de l'histoire naturelle de l'hépatite B (**Jaillais et al., 2017**).

	Marqueurs de dépistage sérologique			Ag HBe	Ac HBe	ADN du VHB
	Ag HBs	Ac HBs	Ac HBc			
<b>Hépatite aiguë</b>	+	-	+ (IgM)	+	-	+
<b>Hépatite guérie</b>	-	+	+ (IgG)	-	+/-	-
<b>Porteur inactif de l'Ag HBs</b>	+	-	+	-	+	-
<b>Hépatite chronique active à virus sauvage</b>	+	-	+	+	-	+
<b>Hépatite chronique à virus mutant</b>	+	-	+	-	+	+
<b>Vaccination</b>	-	+	-	-	-	-

### 5.2. Diagnostic de l'hépatite aiguë

Le diagnostic de l'hépatite B aiguë est basé sur la détection de l'Ag HBs et des Ac anti-HBc (IgM et IgG). Durant la phase initiale de l'infection, les marqueurs de réplication Ag HBe et l'ADN du VHB sont aussi présents mais ils ne sont pas recherchés dans le diagnostic de l'hépatite aiguë (figure 7) (**Martinot-Peignoux et al., 2005**).

La guérison est annoncée par la perte de l'Ag HBs et apparition des Ac anti-HBs avec normalisation des signes biologiques (**Soussan et Le Pendeven, 2010**).

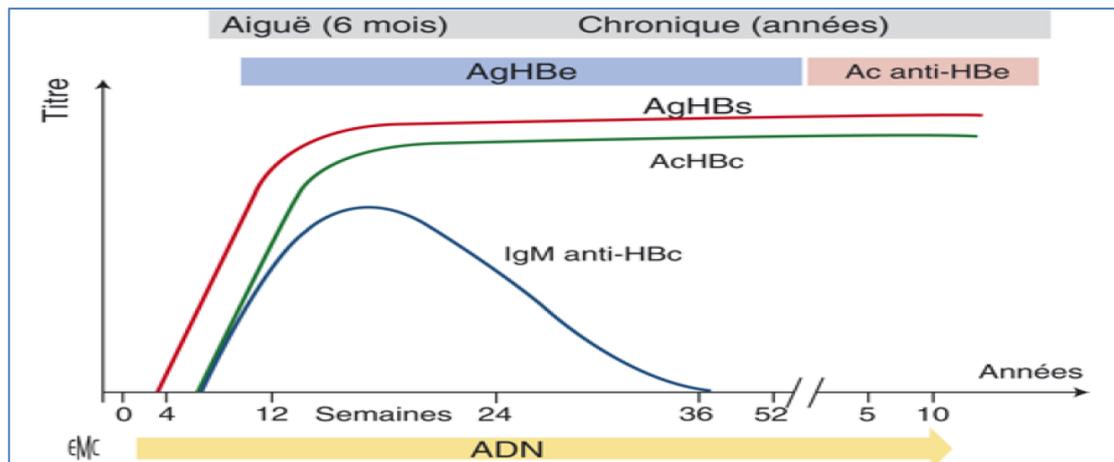


**Figure 7 :** Évolution des marqueurs au cours de l'hépatite B aiguë résolutive. (Soussan et Le Pendeven, 2010)

### 5.3. Diagnostic de l'hépatite chronique

L'infection chronique par VHB se définit par la persistance de l'Ag HBs au-delà de 6 mois, en plus des marqueurs recherchés en hépatite aiguë (Ag HBs, Ac anti-HBc) le bilan virologique doit être complété par la recherche de l'Ag HBe, l'Ac anti-HBe et la recherche et la quantification du génome viral, pour caractériser la forme clinique de cette infection (figure 8). Après ce bilan initial, le suivi du profil sérologique et la recherche régulière de l'ADN du VHB permettent d'observer l'évolution de l'infection au cours du temps (Soussan et Le Pendeven, 2010).

Aujourd'hui, la recherche du génome viral est réalisée par des techniques quantitatives sensibles utilisant la PCR en temps réel. La mesure de la charge virale qui permet de guider l'indication du traitement chez les patients souffrant d'une hépatite chronique B (Zoulim, 2006 ; Ouzan, 2014).



**Figure 8 :** Évolution des marqueurs au cours de l'infection chronique par le virus de l'hépatite B (Soussan et Le Pendeven, 2010)

## 6. Traitements et prévention de l'hépatite B

### 6.1. Traitements

- L'infection aiguë par le virus de l'hépatite B ne nécessite pas de traitement antiviral spécifique (Biomnis, 2012 ; Goffard, 2012), elle est spontanément résolutive chez 95% des adultes immunocompétents (Sebastiani *et al.*, 2017).
- Pour l'hépatite fulminante la seule alternative possible est de pratiquer une transplantation rapide du foie (Buffet, 2005).
- Dans le cas d'une hépatite chronique active les traitements ont pour but d'inhiber la réplication, afin d'éviter une évolution de l'infection virale vers la cirrhose et le CHC (Bordier *et al.*, 2003 ; Soussan et Le Pendeven, 2010). Seule la phase répliquative mérite donc une thérapie particulière.

Les différents traitements disponibles pour l'hépatite B sont les interférons  $\alpha 2a$  et  $2b$  (IFN), l'interféron pégylé  $\alpha 2a$  (IFN-PEG  $\alpha 2a$ ), et les analogues nucléosidiques ou nucléotidiques : La lamivudine, l'adéfovir, l'entécavir, la telbivudine et le ténofovir (Asselah *et al.*, 2008; Lunel-Fabiani *et al.*, 2014)

En Algérie, le traitement de l'hépatite B chronique repose sur l'interféron  $\alpha$  pégylé, l'entécavir, l'adénofovir dipivoxil, quant à la Lamivudine elle est de moins en moins utilisée parce que les souches circulantes ont développé des résistances.

Le véritable traitement de l'hépatite B est préventif, il repose sur la vaccination.

## 6.2. Prévention

La prévention de l'hépatite virale B repose essentiellement sur la vaccination, toute fois des mesures générales d'hygiène ne doivent pas être négligées ou sous estimées

### 6.2.1. Mesures générales

Il est conseillé de prendre les mesures générales suivantes (**Di Pumpo, 2008**) :

- L'utilisation de matériel stérile ou à usage unique pour tout geste invasif avec contact sanguin,
- L'usage du préservatif pour lutter contre les IST,
- Le dépistage systématique des donneurs de sang,
- En milieu familial, l'utilisation de matériels tranchants doit être à titre individuel,

### 6.2.2. Vaccination

La vaccination contre le VHB s'inscrit dans le cadre d'une politique mondiale de lutte contre un virus, dont l'homme est le seul réservoir, elle a été proposée initialement aux seuls groupes à risque, cette politique ne parvenant pas à éradiquer l'hépatite B, l'OMS a recommandé en 1992, une stratégie de vaccination universelle dans le but de réduire le nombre de porteurs de l'AgHBs ainsi que d'éviter la survenue des complications graves de l'hépatite B (**Buffet, 2005**).

Le vaccin contre l'hépatite B est très efficace, il prévient l'infection par neutralisation immédiate du virus à condition que le titre des Ac anti-HBs soit supérieur à 10 mUI/ml (**Marie-Louise, 2016**).

Le vaccin actuel est produit par génie génétique. Le schéma vaccinal usuel comporte trois doses, dont les deux premières sont généralement injectées à un mois d'intervalle et la troisième 5 à 12 mois plus tard. La vaccination complète confère une protection d'au moins 15 ans, et d'après les données scientifiques dont on dispose aujourd'hui, probablement une protection à vie, il n'est pas recommandé de faire des rappels (**OMS, 2010**).

## **7. La mesure du taux de l'Ag HBs dans le suivi de l'hépatite B chronique**

Depuis sa découverte la recherche qualitative de l'antigène de surface du virus de l'hépatite B (Ag HBs) est utilisée comme marqueur pour le diagnostic d'infection par le VHB. La quantification de l'Ag HBs mesure la fraction d'enveloppes qui entourent le virus, et celle plus importante qui circulent sous la forme de sphères ou de bâtonnets. L'intérêt de la mesure du taux de l'Ag HBs a commencé avec l'observation d'une éventuelle corrélation avec le titre d'ADNccc, la forme de répllication virale dans le noyau des hépatocytes. Depuis, de nombreuses études portant sur la mesure du taux de l'Ag HBs ont été réalisées pour montrer son intérêt éventuel dans le suivi de l'histoire naturelle et la prédiction de la réponse au traitement dans l'hépatite chronique B (**Bouthry *et al.*, 2012 ; Martinot-Peignoux *et al.*, 2013**).

La mesure du taux de l'Ag HBs est maintenant disponible, réalisée avec des techniques rapides, automatisées, basées sur des tests immunologiques (**Bouthry *et al.*, 2012**).

Les tests commercialisés les plus utilisés sont (**Ouzan, 2014**):

- Le test Architect® (laboratoire Abbott)
- Le test Elecsys® (laboratoire Roche)
- Le test Murex® (laboratoire Diasorin)

Le premier test a été développé par Abbott sur l'automate Architect, c'est actuellement la méthode la plus largement utilisée dans les études cliniques.

Ce test a une très bonne sensibilité et spécificité, estimées à 99,5 % et 99,9 % respectivement. De plus, il permet de détecter tous les mutants de l'Ag HBs (**Maylin, 2012**).

### **7.1. Le taux de l'antigène HBs et histoire naturelle**

Bien que les titres d'Ag HBs diffèrent considérablement au cours des différentes phases de l'infection (**Maylin, 2012**), le taux de l'antigène HBs diminue progressivement tout au long de l'histoire naturelle pour atteindre parfois un taux indétectable, sa disparition signe la fin de cette infection (**Ouzan, 2014**).

#### **❖ Malades antigène HBe positif**

Les taux de l'Ag HBs sont significativement plus élevés chez les patients Ag HBe positifs que chez les patients Ag HBe négatifs. Cette différence a été retrouvée dans différentes études aussi bien européennes qu'asiatiques, et pourrait être utile chez les patients infectés par un

virus mutant Pré-Core afin de distinguer une phase de portage inactif d'une phase B chronique active (**Maylin, 2012**).

Le taux de l'antigène HBs est plus élevé chez les patients immunotolérants que chez les patients ayant une hépatite chronique active (**Ouzan, 2014**).

Chez les patients Ag HBe positifs, des résultats préliminaires d'études montrent que le titre d'Ag HBs serait le seul marqueur indépendant non invasif significatif d'une fibrose avancée ce qui signifie qu'il existe une forte corrélation entre le titre de l'Ag HBs et le stade de fibrose (**Bouthry et al., 2012**).

### ❖ Malades antigène HBe négatif

Un taux d'Ag HBs plus élevé chez les malades ayant une hépatite chronique active antigène HBe négatif que chez ceux qui présentent un portage inactif du virus, ces derniers sont caractérisés par un taux d'Ag HBs très bas. L'association d'un taux d'Ag HBs inférieur à 1000 UI/ml et d'un ADN du VHB inférieur à 2000 UI /ml permet de définir le portage inactif du virus avec de très bonnes valeurs prédictives positives et négatives (**Ouzan, 2014**).

## 7.2. Prédiction de la réponse au traitement

### 7.2.1. Prédiction de la réponse au traitement par interféron

#### ❖ Malades antigène HBe positif

Depuis quelques années, plusieurs études ont montré l'intérêt de la mesure du taux de l'AgHBs durant le suivi thérapeutique (**Maylin, 2012**).

Chez le malade antigène Ag HBe positif, la perte de l'antigène HBe précède en général la perte éventuelle de l'antigène HBs. l'importance de la diminution du taux de l'antigène HBs obtenue par l'interféron pégylé permet de prédire l'efficacité de ce traitement.

L'obtention d'un taux d'antigène HBs inférieur à 1500 UI/ml à la douzième ou à la vingt-quatrième semaine de traitement permet d'espérer une séroconversion HBe dans 54 à 57% des cas, ces malades sont invités à poursuivre leur traitement par l'interféron (**Ouzan, 2014**). Par ailleurs, aucune séroconversion HBe n'a été observée chez les patients ayant un titre d'Ag HBs supérieur à 20 000 UI/ml aux mêmes semaines, suggérant alors un arrêt précoce du traitement (**Bouthry, 2012**).

### ❖ Malades antigène HBe négatif

La diminution du taux de l'antigène HBs obtenue par l'interféron pégylé chez les malades antigènes HBe négatif permet de prédire la survenue d'une réponse durable et la perte éventuelle de l'antigène HBs, cette perte (obtenue à long terme dans un peu plus de 10% des cas) survient le plus souvent chez les malades qui présentent sous interféron une virémie indétectable.

Une diminution du taux de l'antigène HBs de plus de 10% (présente dans la moitié des cas) à la douzième semaine permet de prédire une réponse durable dans un cas sur deux (**Ouzan, 2014**).

À l'inverse, l'absence d'une décroissance du taux de l'antigène HBs associée à un déclin de l'ADN du VHB de moins de 2 Log à la douzième semaine ne s'accompagne jamais d'une réponse durable, ce qui justifie l'utilisation de l'AgHBs quantitatif pour orienter la stratégie thérapeutique vers la décision d'un arrêt précoce de traitement (**Bouthry et al., 2012 ; Ouzan, 2014**).

### 7.2.2. Prédiction de la réponse au traitement par les analogues

#### ❖ Malades antigène HBe positif

Très peu d'études se sont intéressées à l'évolution du titre de l'Ag HBs chez les malades traités par les analogues (**Bouthry et al., 2012 ; Ouzan, 2014**). Dans le cas de traitement à long terme, l'objectif est une suppression virale par inhibition de la reverse transcriptase (**Martinot-Peignoux et al., 2013**). La décroissance du titre de l'Ag HBs pendant un traitement par les analogues chez les patients Ag HBe positif semble plus évidente à court terme.

#### ❖ Malades antigène HBe négatif

La décroissance de l'Ag HBs semble plus lente chez les malades Ag HBe négatif comparée aux malades Ag HBe positif, elle est aussi beaucoup plus marquée sous IFN que sous analogues. Malgré la survenue d'une virosuppression complète et prolongée, la perte de l'Ag HBs est rare, voire exceptionnelle et particulièrement chez le malade Ag HBe négatif. L'inconvénient des analogues est la nécessité d'une durée indéfinie du traitement chez la plupart des patients, leur arrêt étant généralement associé à une réactivation virale. Ainsi le titrage de l'Ag HBs pourrait permettre de reconnaître les malades susceptibles de ne pas rechuter après l'arrêt du traitement (**Martinot-Peignoux et al., 2013 ; Ouzan, 2014**).

Notre étude rétrospective a été menée au sein de l'Institut Pasteur d'Algérie (IPA) au niveau du département de virologie, laboratoire des hépatites virales à Sidi Fredj de la wilaya d'Alger durant une période de quatre mois, allant du mois de février jusqu'au mois de juin 2018. L'objectif de notre étude est de voir s'il existe ou non une corrélation entre la charge virale du virus de l'hépatite B et le taux de l'Ag HBs, chez les porteurs chronique d'hépatite B.

## **1. Matériel**

### **1.1. Matériel biologique**

#### **▪ Échantillonnage**

Les prélèvements ont été effectués soit au niveau du centre de prélèvement de l'annexe de Sidi Fredj, ou bien, ils sont acheminés des différentes structures hospitalières du territoire national. Ils sont réalisés selon une fiche technique de prélèvement du laboratoire (Voir annexe II) et sont accompagnés d'une fiche de renseignement clinique (Voir annexe I).

Le sang est prélevé dans des tubes secs ou contenant de l'EDTA (qui est un anticoagulant), puis centrifugé pendant 15 min à une vitesse de 4000 tours/minutes, pour la récupération des sérums ou plasma qui sont le matériel biologique utilisé dans cette étude.

Les échantillons recueillis sont conservés jusqu'à leur utilisation, soit à + 4°C pour une durée de 72 heures ou congelés à -20°C pour une durée plus longue, tout en évitant la congélation et la décongélation répétées.

C'est une étude rétrospective qui a porté sur 169 patients porteurs chroniques de l'hépatite B, reçus à l'IPA entre février 2016 à décembre 2017. Pour ces échantillons une sérologie complète a été réalisée, une charge virale et le taux de l'Ag HBs.

## 1.2. Matériels non biologique

Les réactifs et appareillages utilisés durant cette étude sont présentés dans le tableau suivant :

**Tableau III** : Matériel non biologique pour l'étude sérologique et moléculaire.

	Matériel non biologique	
	Réactifs	Appareillage
L'étude sérologique	<ul style="list-style-type: none"> <li>❖ <b>Kits pour Automate</b> HBsAg, HBsAg Qualitative II, HBeAg, Anti-HBc II, Anti-HBe, Anti-HBs.</li> <li>❖ <b>Kits pour ELISA</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Coffret HBsAg Sensitive ELISA (DIALAB) composé d'une microplaque de 96 cupules, contrôles (positif et négatif), diluant, enzyme conjuguée, substrat A et B, solution stop, solution de lavage) (Voir Annexe V).</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>❖ <b>Automate</b> ARCHITECT i1000SR Abbott (Voir Annexe III).</li> <li>❖ <b>ELISA</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>-Incubateur,</li> <li>-Laveur automatique</li> <li>-Spectrophotomètre</li> <li>-Vortex</li> <li>-Imprimante (Voir annexe IV)</li> </ul> </li> </ul>
L'étude moléculaire	<ul style="list-style-type: none"> <li>❖ <b>Kit :</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan HBV Test, version 2.0</li> </ul> </li> </ul> <p>Ce kit est composé de :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✦ Quatre cassettes qui comportent : Les particules de verre magnétiques, tampon de lyse, solution de protéinase, tampon d'élution, QS, mélange réactionnel, Mn<sup>2+</sup>.</li> <li>✦ Contrôles (fortement positif, faiblement positif et le négatif).</li> <li>✦ Réactif de lavage.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>❖ <b>Automate</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan (Voir Annexe VI).</li> </ul> </li> </ul>

## **2. Méthodes d'analyses**

Nous avons procédé durant notre étude à deux type de tests ; sérologique et moléculaire.

### **2.1. Tests sérologiques**

Afin de rechercher les marqueurs du VHB, deux techniques immunologiques ont été réalisées ; la technique de chimiluminescence microparticulaire (CMIA) sur automate « ARCHITECT ABBOTT » et La technique immuno-enzymatique (ELISA).

#### **2.1.1. Technique microparticulaire par chimiluminescence (CMIA)**

- **Principe de la CMIA**

Le principe de cette technique est basé sur un dosage immunologique microparticulaire par chimiluminescence (CMIA) réalisé sur l'automate ARCHITECT.

Les méthodes CMIA permettent d'identifier les antigènes et les anticorps associés aux infections hépatiques virales.

##### **➤ Recherche des antigènes (Ag) : Ag HBs et Ag HBe**

Les antigènes éventuellement présents dans l'échantillon se lient aux microparticules paramagnétiques recouvertes d'anticorps anti-HBs ou anti-HBe et au conjugué d'anticorps anti-HBs ou anti-HBe marqué à l'acridinium.

Après lavage, le tampon de lavage est ajouté au mélange réactionnel. Après un autre cycle de lavage les solutions de préactivation et d'activation sont ajoutées à ce mélange.

La réaction chimiluminescente qui en résulte est mesurée en unités relatives de lumière (URL) qui est proportionnelle à la quantité d'antigène présente dans l'échantillon.

La présence ou l'absence de l'antigène dans l'échantillon est déterminée en comparant le signal chimiluminescent de la réaction au signal de la valeur seuil déterminé à l'aide d'une courbe de calibration active.

Si le signal chimiluminescent de l'échantillon est supérieur ou égal au signal de la valeur seuil, l'échantillon est considéré comme réactif pour l'antigène.

- ❖ Pour les échantillons déterminés précédemment comme étant réactifs pour l'Ag HBs on utilise un autre dosage immunologique par CMIA pour la détermination quantitative de cet antigène.

La concentration en antigène de surface du VHB dans l'échantillon est déterminée à l'aide d'une courbe de calibration pour le dosage ARCHITECT HBsAg. Ce dosage permet la mesure du taux d'Ag HBs de 0,05 à 250 UI/ml. Cependant, une dilution manuelle avec le diluent fourni dans le kit au 1/500 voire au 1/1000 est nécessaire pour la quantification des hauts titres, ces dilutions manuelles ont été remplacées par des dilutions automatiques.

Ce test a une très bonne sensibilité et spécificité estimées à 99,5% et 99,9 respectivement. De plus il permet de détecter tous les mutants de l'Ag HBs.

## ➤ **Recherche des anticorps (Ac)**

### **1. Ac anti-HBc et Ac anti-HBs**

Les anticorps présents dans l'échantillon se lient aux microparticules paramagnétiques recouvertes d'antigènes recombinants

Après un lavage, le conjugué d'anticorps (anti-HBs ou anti-HBc) marqué à l'acridinium est ajouté.

Après un autre cycle de lavage, les solutions de préactivation et d'activation sont ajoutées au mélange réactionnel.

La réaction chimiluminescente qui en résulte est mesurée en unités relatives de lumière (URL) il existe une relation directe entre la quantité d'anticorps présente dans l'échantillon et le nombre d'URL détecté par le système optique ARCHITECT iSystem.

La présence ou l'absence de l'anticorps dans l'échantillon est déterminée en comparant le signal chimiluminescent de la réaction au signal de la valeur seuil déterminé à l'aide d'une courbe de calibration active.

Si le signal chimiluminescent de l'échantillon est supérieur ou égal au signal de la valeur seuil, l'échantillon est considéré comme réactif pour l'anticorps.

### **2. Ac anti-HBe**

L'échantillon, le réactif de neutralisation et les microparticules paramagnétiques recouvertes d'Ac anti-HBe sont mis en présence. Les Ac anti-HBe présents dans l'échantillon se lient aux

Ag HBe recombinants présent dans le réactif de neutralisation. Les Ag HBe recombinants non liés peuvent alors se lier aux microparticules recouvertes d'Ac anti-HBe.

Après un lavage, le conjugué d'Ac anti HBe marqué à l'acridinium est ajouté pour créer un mélange réactionnel. Après un autre cycle de lavage, les solutions de préactivation et d'activation sont ajoutées au mélange réactionnel.

La réaction chimiluminescente qui en résulte est mesurée en unités relatives de lumière (URL). Il existe une relation inverse entre la quantité d'Ac anti-HBe dans l'échantillon et les URL détectées par le système optique ARCHITECT iSystem.

La présence ou l'absence d'Ac anti-HBe dans l'échantillon est déterminée en comparant le signal chimiluminescent de la réaction au signal de la valeur seuil déterminé à l'aide d'une courbe de calibration active.

Si le signal chimiluminescent de la réaction est plus intense que le signal de valeur seuil, l'échantillon est considéré comme non réactif pour les Ac anti-HBe.

### **2.1.2 .Technique ELISA**

#### **➤ Principe de la technique :**

C'est une technique immuno-enzymatique basée sur la détection des antigènes ou des anticorps dans le sérum ou le plasma humain.

Pour la recherche de l'Ag HBs une ELISA de type sandwich a été utilisée.

La technique utilise une phase solide sensibilisée avec des Ac monoclonaux anti-HBs, sur ces anticorps vont se fixer les antigènes présents dans l'échantillon.

Après un lavage un conjugué anti-HBs marqué à la peroxydase est rajouté, puis un second lavage est réalisé. L'addition du substrat de l'enzyme produit une réaction colorée mesurée par spectrophotométrie, et dont l'intensité est proportionnelle à la quantité d'antigène présent dans l'échantillon.

Le dosage de l'Ag HBs se fait selon le protocole suivant :

On dispose d'une microplaque constituée de 12 barrettes de 8 puits chacune, coté avec des anticorps monoclonaux de souris anti-HBs.

1. Préparer la liste des sérums, la solution de lavage (x20) et régler l'incubateur à 37°C.
2. Préparer la plaque avec le nombre de barrettes nécessaires et laisser revenir à température ambiante.
3. Laisser la cupule A1 pour le blanc.

4. Déposer :

- 20 µl de diluent dans chaque cupules sauf le blanc
- 100 µl de contrôle négatif dans B1, C1 et D1
- 100 µl de contrôle positif dans E1, F1
- 100 µl de sérum de patients dans G1, H1, A2, ...

5. Homogénéiser en aspirant et en faisant ressortir le mélange au moins 3 fois.  
Recouvrir la plaque avec un film adhésif et incuber à 37 °C pendant 60 min.

6. Rajouter 50 µl de conjugué HRP dans chaque cupules sauf le blanc.

7. Recouvrir la plaque avec un film adhésif et Incuber à 37 °C pendant 30 min.

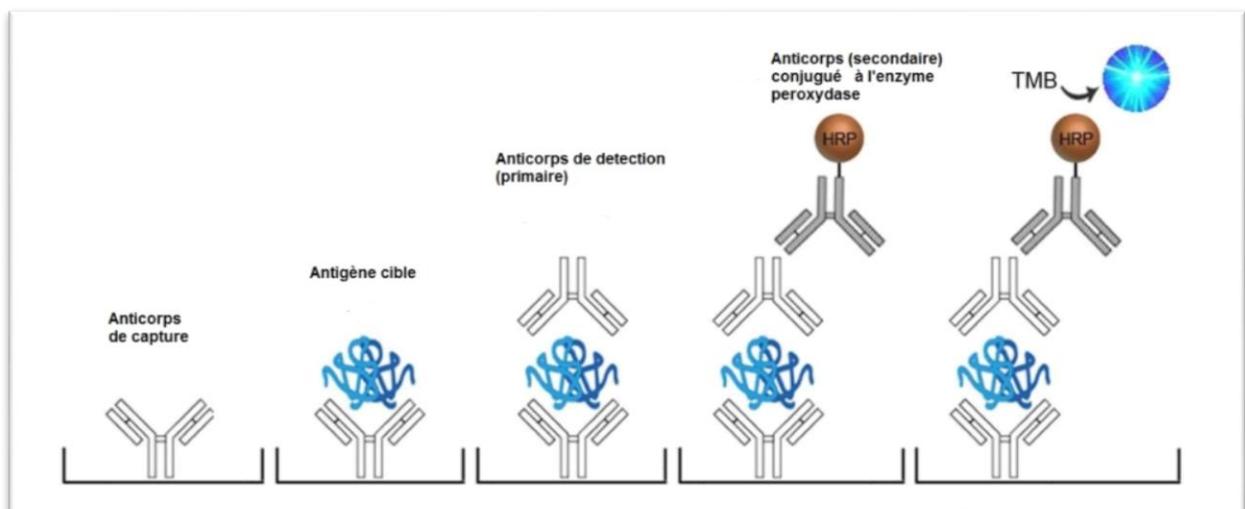
8. Après incubation, un lavage est effectué afin d'éliminer tout ce qui n'est pas fixé.

9. Déposer 50 µl de substrat A + 50 µl de substrat B dans chaque cupule (y compris le blanc) puis incuber à 37 °C pendant 30 min à l'obscurité.

10. Déposer 50 µl de solution stop dans chaque cupule.

La lecture des résultats s'effectue à l'aide d'un spectrophotomètre à 450nm sans blanc ou 450/630nm.

Les Do obtenues permettent de conclure la présence ou l'absence de l'Ag HBs (figure 9).



**Figure 9** : Principe de l'ELISA sandwich (Kim, 2017)

### Lecture des résultats

- Vérifier si la densité optique (DO) du blanc < 0.080 à 450 nm
- Vérifier si la densité optique (DO) du contrôle négatif  $\leq 0.100$  à 450/630 ou à 450 nm sans le blanc

- Vérifier si la densité optique (DO) du contrôle positif  $\geq 0.800$  à 450/630 ou à 450 nm sans le blanc

Le test doit être refait si toutes les valeurs de contrôle sont en dehors de ces normes

### **Calcul de la valeur seuil et interprétation des résultats**

La valeur seuil est déterminée à partir du contrôle négatif

Calculer la valeur moyenne d'absorbance mesurée pour le contrôle négatif

**$V_s = \text{moyenne des contrôles négatifs} + 0.06$**

La présence ou l'absence de l'Ag HBs est déterminée par le calcul du ratio pour chaque échantillon :

**Ratio = DO de chaque échantillon /  $V_s$**

- Si la valeur du ratio est  $< 1$  l'échantillon est considéré négatif pour l'Ag HBs.
- Si la valeur du ratio est  $\geq 1$  l'échantillon est considéré positif pour l'Ag HBs.

## **2.2. Test moléculaire**

Dans notre étude, 169 échantillons confirmés Ag HBs positifs par les tests sérologiques, sont testés par PCR en temps réel, en utilisant la plate-forme semi-ouverte d'Abbott : m2000rt, ou bien celle automatisée de Roche diagnostics : Cobas AmpliPrep et Cobas TaqMan 48, pilotés tous les deux par le logiciel AMPLILINK.

### **Principe :**

Ce test est basé sur l'amplification in vitro de l'acide nucléique (ADN). Il permet la mesure quantitative de l'ADN du VHB dans le sérum humain dans le cadre de la surveillance et du suivi thérapeutique des patients.

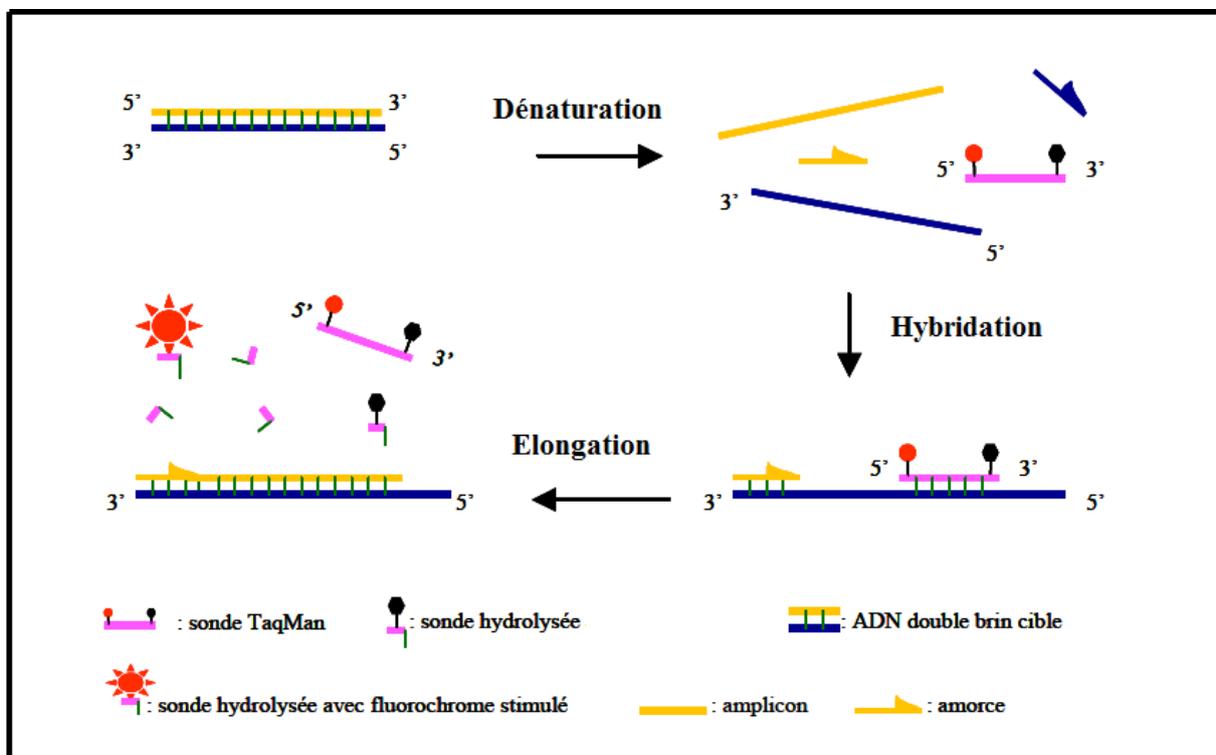
Le test COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan HBV v2.0 utilise la technologie d'amplification par PCR en temps réel, il utilise des sondes fluorescentes doublement marquées permettant une détection en temps réel l'accumulation des produits de la PCR par contrôle de l'intensité d'émission de fluorophores rapporteurs libérés pendant la procédure d'amplification. Les sondes sont des sondes VHB et oligonucléotidiques spécifiques du standard de quantification (QS) du VHB avec un fluorophore rapporteur et un fluorophore quencher.

Les sondes VHB et ceux du QS sont marquée avec des fluorophores rapporteurs différents.

Au cours du test, lorsque ces sondes sont intactes la fluorescence du fluorophore rapporteur est supprimée du fait de la proximité du fluorophore quencher par suite des effets de transfert

d'énergie. Pendant la PCR, la sonde s'hybride à la séquence cible et est clivée par l'activité nucléase 5'3' de l'ADN polymérase thermostable. Quand le fluorophore quencher et le fluorophore rapporteur sont libérés et séparés l'activité fluorescente de ce dernier est augmentée.

L'amplification de l'ADN du VHB et celle de l'ADN du QS sont mesurées indépendamment à des longueurs d'ondes différentes. L'intensité de la fluorescence est directement proportionnelle à la quantité d'ADN amplifiée au cours de la réaction PCR. On peut suivre ainsi l'amplification de la séquence cible après chaque cycle, d'où le terme de « PCR en temps réel »



**Figure 10 :** Principe de la PCR quantitative en temps réel avec la sonde TaqMan (Elyse et Houde, 2002).

Les réactions d'amplification par PCR en temps réel sont effectuées avec :

- ❑ Des amorces VHB
- ❑ Des sondes oligonucléotidiques marquées par fluorescence spécifique du VHB et du standard de quantification (QS) du VHB
- ❑ ADN polymérase thermostable Z05
- ❑  $Mn^{2+}$
- ❑ Désoxynucléotides Triphosphate (dNTPs): dATP, dCTP, dGTP, dUTP

La PCR en temps réel par la sonde TaqMan comporte deux étapes :

### ▪ Préparation de l'échantillon :

La préparation des échantillons est automatisée et se fait sur l'appareil COBAS AmpliPrep à l'aide d'une technique générique de capture basée sur silice.

La procédure traite 600 µl de sérum ou de plasma humain.

Les particules du VHB sont lysées par incubation à des températures élevées à l'aide d'un tampon de lyse qui libère et protège l'ADN. La protéase et une quantité connue de molécules d'ADN du QS du VHB sont introduites dans chaque échantillon avec le réactif de lyse et de particules de verre magnétiques. Ensuite le mélange est incubé et l'ADN du VHB et l'ADN du QS sont liés à la surface des particules de verre. Les substances non liées sont retirées par lavage des particules magnétiques. Une fois les billes séparées et les étapes de lavage complétées, les acides nucléiques absorbés sont élués à température élevée dans une solution aqueuse.

L'échantillon traité contenant l'ADN libéré du VHB et l'ADN du QS du VHB est ajouté au mélange d'amplification et transféré sur l'analyseur COBAS TaqMan.

### ▪ Amplification par PCR

Le thermocycleur de l'analyseur COBAS TaqMan chauffe le mélange réactionnel afin de dénaturer l'ADN bicaténaire et d'exposer les séquences cibles des amorces spécifiques du génome de l'ADN circulaire du VHB et du QS du VHB. Pendant que le mélange refroidit, les amorces s'hybride à l'ADN cible. En présence de  $Mn^{2+}$  et d'un excès de dNTPs, l'ADN polymérase thermostable allonge les amorces hybridées le long des matrices cibles, ce qui génère une molécule d'ADN bicaténaire appelée amplicon.

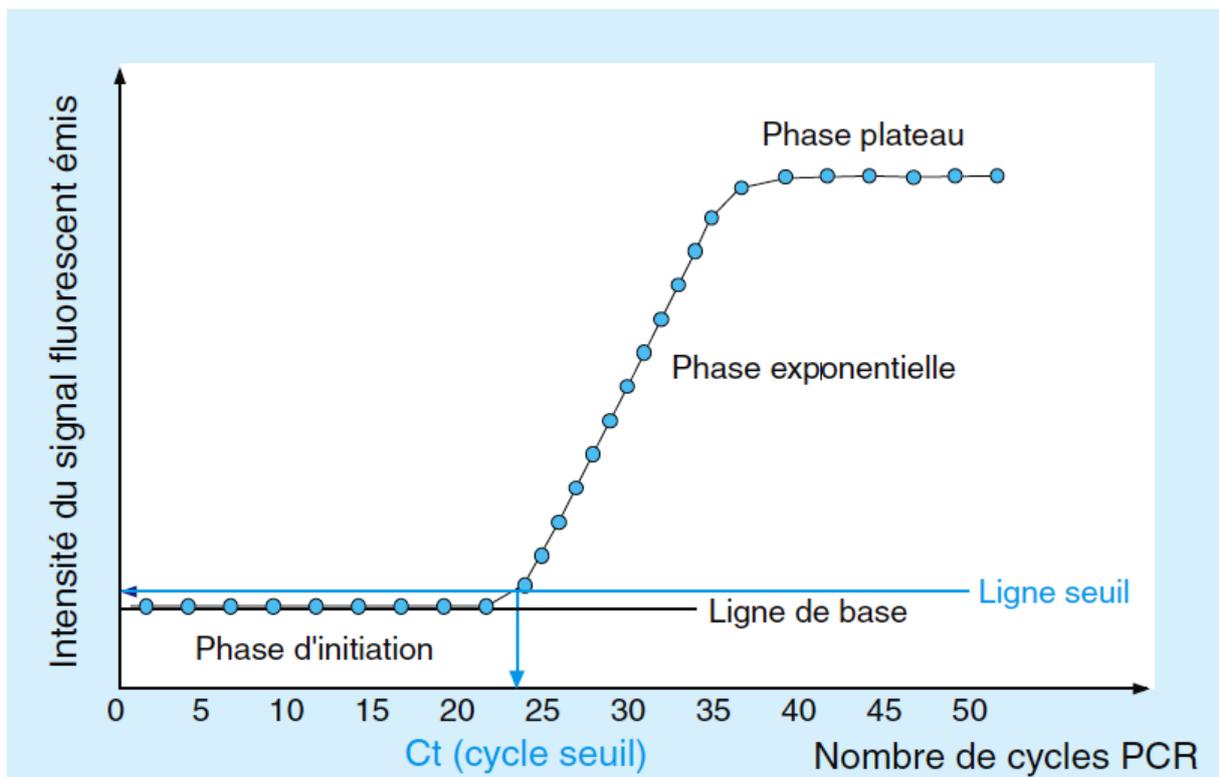
L'analyseur répète automatiquement cette opération pendant un nombre de cycle défini, chaque cycle doublant effectivement la quantité d'ADN de l'amplicon.

### **Interprétation des résultats**

A la fin de la PCR, le logiciel AMPLILINK, représente graphiquement les résultats de l'amplification et de quantification ceux-ci se présentent sous forme de graphe illustrant l'évolution de la cinétique d'accumulation de la fluorescence au cours des cycles

d'amplification. L'évolution de cette cinétique prend l'allure d'une courbe sigmoïde ou se distingue 3 phases (figure 11) :

- ✦ Phase d'initiation (phase de bruit de fond) : la quantité de fragment amplifié est insuffisante pour générer un signal fluorescent.
- ✦ Phase exponentielle : elle est caractérisée par la visualisation de l'augmentation de la fluorescence ou la quantité de produit de PCR obtenu est directement proportionnelle à l'intensité de la fluorescence.
- ✦ Phase plateau (phase de saturation) : certains composants de la réaction deviennent limitant, le système ne permet plus une amplification exponentielle.



**Figure 11** : Le suivi en temps réel d'une réaction PCR (Tse et Capeau, 2003).

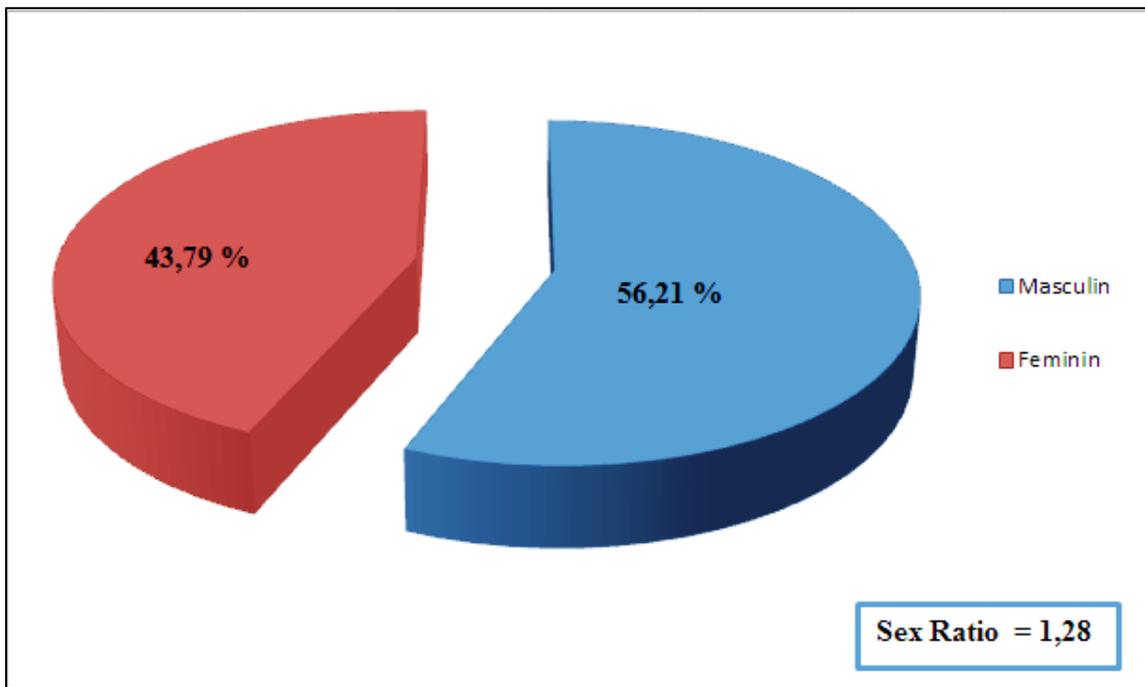
## 1. Résultats

### 1.1. Répartition des cas selon le sexe

**Tableau IV** : Répartition des porteurs chroniques selon le sexe

Sexe	Nombre	Pourcentage %
Masculin	95	56,21
Femme	74	43,79
Total	169	100

La répartition selon le sexe des **169** patients rapporte une prédominance masculine avec une fréquence de **56,21%** pour les hommes et une fréquence de **43,79%** pour les femmes, le Sex Ratio de **1.28** (figure 12).



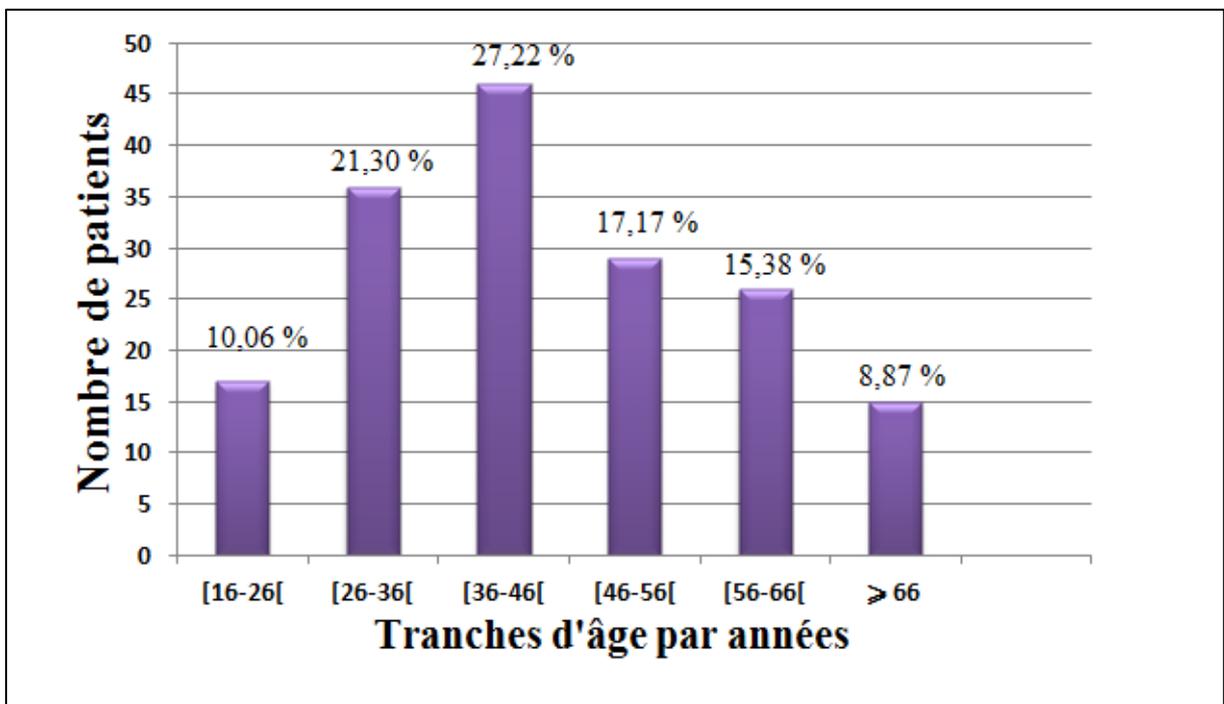
**Figure 12** : Répartition des patients porteurs chroniques en fonction du sexe.

## 1.2. Répartition des cas selon les tranches d'âge

Les résultats présentés dans la figure 13 nous montrent que :

Le pourcentage des porteurs chroniques le plus élevé est de (27,22 %) qui se situe dans la tranche d'âge [36 -46[ ans ; suivi respectivement des tranches d'âge [26-36[, [46-56[ et [56-66[ ans, avec des fréquences de (21,30 %), (17,17 %) et (15,38 %). On retrouve des fréquences plus faible de (10,06%) pour la tranche d'âge [16-26[, et de (8,87 %) au-delà de 66 ans.

La moyenne d'âge de la population étudiée est de  $43,25 \pm 14,35$  ans.



**Figure 13 :** Distribution des porteurs chroniques du VHB selon la tranche d'âge.

### 1.3. Répartition des cas selon le statut HBe

Tableau V : Répartition des porteurs chroniques du VHB selon Le statut HBe.

Statut HBe	Nombre	Pourcentage %
Ag HBe (+)	6	3,55
Ag HBe (-)	163	96,45
Total	169	100

La population d'étude est majoritairement constituée de porteurs chroniques Ag HBe négatif avec une fréquence de **96,45 %** contre **3,55%** de porteurs chronique Ag HBe positif.

Parmi les 163 porteurs chroniques à HBe négatif, on distingue 146 non traités ayant une fréquence de **(89,57%)** et 17 traités avec une fréquence de **(10,43%)**, et concernant les 6 patients à HBe positif ; 3 sont traités et 3 ne sont pas traités avec des fréquences égales **(50%)**.

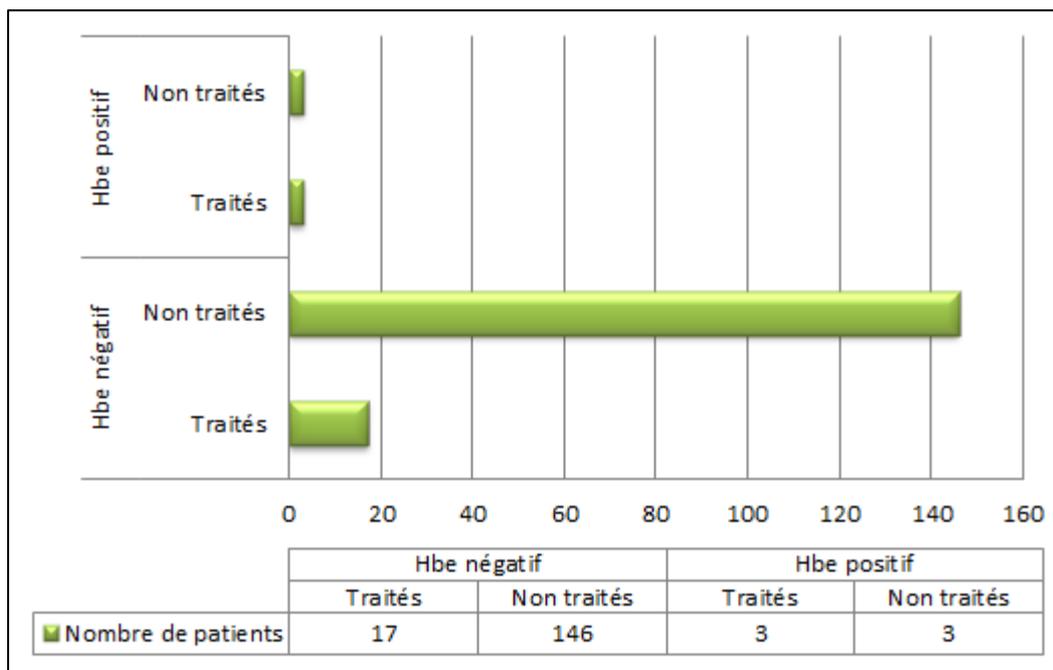
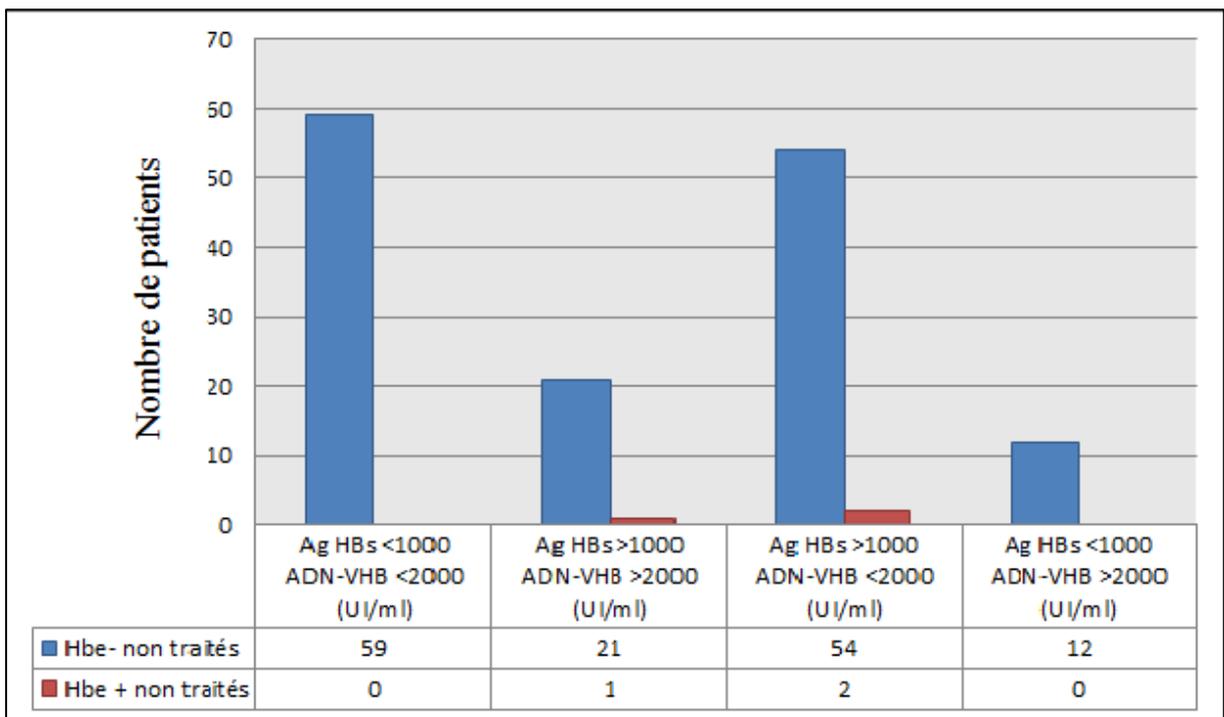


Figure 14 : Répartition des patients traités et non traités selon le statut HBe

#### 1.4. Répartition des cas selon les taux d'Ag HBs et de l'ADN du VHB

Dans la population étudiée on a 149 patients non traités dont 146 à HBe négatif contre 3 à HBe positif. Ces patients sont classés selon les taux d'Ag HBs et l'ADN du VHB, On retrouve :

- 59 patients à HBe négatif qui ont un taux d'Ag HBs < 1000 UI/ml et un taux d'ADN-VHB < 2000 UI/ml.
- 21 patients à HBe négatif et 1 patient à HBe positif qui ont un taux d'Ag HBs > 1000 UI/ml et un taux d'ADN-VHB > 2000 UI/ml.
- 54 patients à HBe négatif et 2 patients à HBe positif ayant un taux d'Ag HBs > 1000 UI/ml et un taux d'ADN-VHB < 2000 UI/ml.
- 12 patients à HBe négatif qui ont un taux d'Ag HBs < 1000 UI/ml et un taux d'ADN-VHB > 2000 UI/ml.



**Figure 15 :** Classification des porteurs chroniques non traités selon les taux d'Ag HBs et l'ADN du VHB

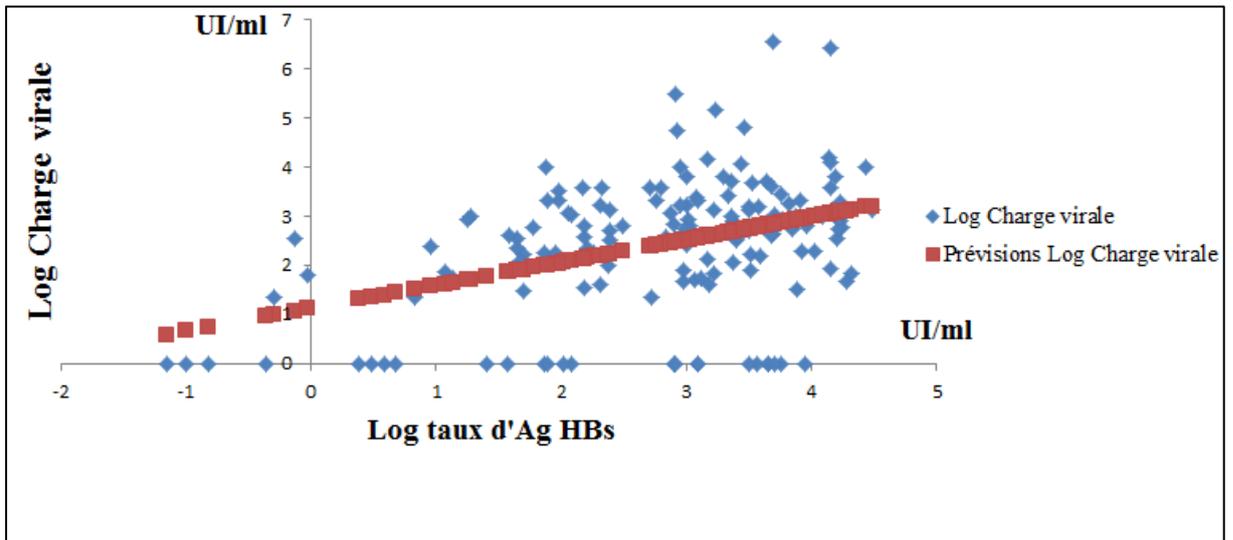
Concernant la classification des 20 patients traités (17 à Ag HBe négatif et 3 à Ag HBe positif), qui est présentée dans le tableau VI on retrouve :

**Tableau VI** : Répartition des porteurs chroniques traités selon les taux d'Ag HBs

	Patients à Ag HBe -	Patients à Ag HBe +
Ag HBs < 100 UI/ml	3	0
100 < Ag HBs < 1000UI/ml	5	0
Ag HBs > 1000 UI/ml	9	3

### 1.5. Corrélation entre le taux de l'Ag HBs et la charge virale du VHB

La figure 16 représente la distribution des couples de valeurs Ag HBs/ADNVHB en log UI/ml et met en évidence une faible corrélation entre le taux d'Ag HBs et la charge virale VHB. On remarque que certains points sont proches de la droite, mais d'autres en sont éloignés, ce qui indique une relation linéaire positive faible entre le taux de l'Ag HBs et la charge virale avec un coefficient de corrélation égal à 0,4 avec un  $P < 0,0001$ . Cette corrélation a été réalisée sur les 149 patients non traités, les patients sous traitement n'étant pas représentatifs du lien entre la charge virale et le taux de l'Ag HBs.



**Figure 16** : Corrélation entre le taux d'Ag HBs et la charge virale du VHB

## 2. Discussion

Dans notre population d'étude portant sur 169 patients, une dominance masculine est notée, avec un Sex-Ratio de 1,28 (soit 95 hommes pour 74 femmes). La prédominance masculine est plus évidente dans toutes les études réalisées à l'échelle nationale et internationale.

Dans une première étude réalisée par Berkane en juin 2003 à Alger portant sur les hépatites virales, sur une série de 126 patients porteurs du virus B, il rapporte un Sex -Ratio de 2,07 (**Berkane, 2003**).

La prédominance masculine a été également rapportée dans une autre étude, réalisée à l'Est du pays en 2008, portant sur un échantillon de 75 patients, ou un Sex-Ratio de 1,7 a été retrouvé (soit 48 hommes pour 27 femmes) (**Khelifa et Thibault, 2009**).

De même dans une étude rétrospective dirigée par le service d'épidémiologie de Tlemcen, sur la période de 2001 à 2009, portant sur 104 patients, le Sex-Ratio était égal 3,33 (**Benbekhti, 2013**).

En 2012 Gourari confirme la surreprésentation masculine par un Sex-Ratio de 2,24 (**Gourari, 2012**).

Les études faites dans les pays du Maghreb, relèvent également une prédominance masculine, avec un Sex-Ratio de 1,35 ; 1,97 selon (**Kitab et al, 2011 ; SBAI, 2012**) au Maroc, et de 2,48 en Tunisie (**Ben-Alaya et al., 2010**).

Les données épidémiologiques en France (2008-2012), relèvent aussi une représentation masculine prédominante de 59% (**Pioche et al., 2014**), au Royaume-Uni de 60,9% (**Richard et al., 2013**) et en Italie de 76,2 % (**Leluzzi et al., 2014**).

L'âge moyen de nos patients est de 43,25 ans avec des extrêmes de 16 et de 77 ans, les classes les plus représentées sont les 36-46 ans suivis par les 26-36 ans, les fréquences relatives diminuent dans notre échantillon avec l'âge, l'ensemble de ces données sont illustrées dans la figure 13.

Le jeune âge des patients algériens est également retrouvé dans les études précédemment citées, 37 ans et 36 ans au centre du pays (**Berkane, 2003**), 35 à l'Est (**Khelifa et Thibault, 2009**), mais plus âgé à Tlemcen 46 ans (**Benbekhti, 2013**).

Nos résultats concernant l'âge ont été comparés à ceux des pays du Maghreb appartenant à la même zone endémique. Les patients tunisiens sont encore plus jeunes d'une décade, rapportent un âge moyen de 28,5 ans ; et qui varierait en fonction des différents foyers endémiques existant en Tunisie vue le gradient nord-sud connu dans ce pays pour la prévalence du VHB (**Ben-alaya et al., 2010**). Par contre l'âge des patients Marocain se rapprochent de celui de nos patients ; 40,5 et 41 ans (**Kitab et al, 2011 ; SBAI, 2012**).

A partir du tableau V, nous remarquons que le taux d'Ag HBe négatif est plus élevé que l'Ag HBe positif ce qui permet de dire que l'hépatite B à HBe négatif est prédominante dans notre échantillonnage avec un pourcentage de 96,45%.

En effet l'infection par le VHB se caractérise par une première phase associée à un antigène HBe positif c'est la phase d'immunotolérance suivie par une seconde phase la clairance immune marquée par la baisse de la charge virale et la perte progressive de l'Ag HBe, évoluant soit vers une hépatite chronique inactive, une hépatite chronique à Ag HBe positif ou une hépatite à virus mutant Ag HBe négatif, la guérison étant rare à ce stade.

La présence de l'Ag HBe indique une répllication virale active dans les hépatocytes (**Forbi et al., 2012**).

L'hépatite B chronique à Ag HBe négatif compte dans certaines régions pour 50 à 80% du total de la population des patients atteints d'hépatite B chronique (**Funk et al., 2002**).

L'épidémiologie de l'hépatite B chronique à Ag HBe négatif est marquée par une prédominance masculine, ce qui est en accord avec l'étude réalisée par Ankouane à Yaoundé, Cameroun (**Ankouane et al., 2015**).

La mesure du taux de l'AgHBs est relativement récente et son utilisation en pratique clinique n'est pas encore définie. L'AgHBs quantitatif est le reflet du taux d'ADNccc intra-hépatocytaire, sa diminution au cours du temps nécessite donc l'action du système immunitaire et une virosuppression prolongée. Les études menées jusqu'alors ont suggéré son rôle pour mieux caractériser l'histoire naturelle de l'hépatite B chronique et guider la prise en charge thérapeutique (**Rondou, 2015**).

D'après Martinot-peignoux et al, le taux de l'Ag HBs est aujourd'hui reconnu comme étant un support important pour le suivi des patients au cours de l'histoire naturelle de l'hépatite B chronique et pour prédire la réponse au traitement (**Martinot-peignoux et al., 2013**).

Le taux de l'Ag HBs combiné à la mesure de l'ADN du VHB permet de suivre les patients au cours de l'histoire naturelle et de définir le portage inactif pour les patients de génotype D, (génotype retrouvé en Algérie), selon les seuils suivant : (1000 UI/ml pour l'Ag HBs et 2000 UI/ml pour l'ADN du VHB).

Les différentes études citées précédemment ont montré que chez les patients à Ag HBe négatif l'association d'un taux d'Ag HBs <1000 UI/ml et d'un taux d'ADN du VHB < 2000 UI/ml permet de définir le portage inactif du virus (**Maylin, 2012 ; Ouzan, 2014**).

Par contre les patients à Ag HBe négatif ayant un taux d'Ag HBs > 1000 UI/ml et un taux d'ADN du VHB > 2000 UI/ml ont probablement évolué vers une hépatite chronique à Ag HBe négatif qui est une hépatite chronique à virus mutant marquée par des taux de charge virale fluctuants.

Dans le cas des patients à Ag HBe négatif avec un taux supérieur à 1000 UI/ml et une charge virale inférieure à 2000 UI/ml les auteurs suggèrent que le titre d'Ag HBs n'était pas corrélé avec l'ADN du VHB ceci peut s'expliquer par une production et sécrétion plus importante des particules virales vides correspondant à l'excès de l'Ag HBs. Une autre alternative possible pourrait être que l'Ag HBs est produit par une autre voie que l'ADNccc, à partir des séquences d'ADN du VHB intégrées dans le génome de l'hôte (**Maylin, 2012**).

Les patients à Ag HBe positif avec un taux d'Ag HBs supérieur à 1000 UI/ml et une charge virale inférieure à 2000 UI/ml sont probablement en phase de clairance immunitaire, avec persistance de l'Ag HBe et baisse de la charge virale.

Et enfin pour le quatrième cas ou les patients ont un taux d'Ag HBs < 1000 UI/ml et un taux d'ADN du VHB > 2000, il n'est pas expliqué, des études plus approfondies et sur des échantillons plus importants de patients sont nécessaires.

Les résultats de cette étude ont montré une corrélation faible mais significative entre le taux d'Ag HBs et la charge virale du VHB chez l'ensemble des patients (Ag HBe positif et Ag HBe négatif).

Gupta et al, ont montré des résultats similaires avec une corrélation faible mais significative entre l'Ag HBs quantitatif et l'ADN du VHB dans tous les groupes ( $r = 0,443$ ,  $p < 0,01$ ) (**Gupta et al., 2012**).

De même, Lee et al, ont démontré que la corrélation globale entre l'Ag HBs quantitatif et l'ADN du VHB était significative mais très faible ( $r = 0,121$ ,  $p = 0,004$ ) (**Lee et al., 2010**).

Selon l'étude menée par Primadharsini et Wibawa une corrélation significative a été trouvée entre l'Ag HBs quantitatif et l'ADN du VHB ( $r = 0,737$ ,  $p = 0,0001$ ) (**Primadharsini et Wibawa, 2013**).

Chan et al, ont montré que l'Ag HBs quantitatif est bien corrélé avec le log de l'ADNccc ( $r = 0,54$  ;  $p = 0,004$ ) et le log de l'ADN intra-hépatique du VHB total ( $r = 0,43$ ,  $p = 0,028$ ) (**Chan et al., 2007**).

En revanche, Ganji et al, n'ont pas trouvé de corrélation significative entre l'AgHBs quantitatif et l'ADN du VHB ( $r = 0,53$ ,  $p = 0,606$ ) (**Ganji et al., 2011**).

Concernant les patients traités ; Les 3 patients à Ag HBe positif avaient des taux d'Ag HBs élevés, l'un avait une charge virale de 40UI/ml, les deux autres étaient en début de traitement et avaient des charges virales importantes. Ces derniers ont vu leur charge virale baisser sous traitement de de 1240000UI/ml à 1510 UI/ml et de 53189926UI/ml à 1277UI/ml alors que le taux d'Ag HBs est resté important il est passé de 63952.60 à 19681.38 pour le premier et de 25147.47 à 21720.19 UI/ml pour le second.

Pour Les patient à Ag HBe négatif à l'exception d'un patient dont la charge virale était de 142000 UI/ml avec un taux d'Ag HBs de 11963.76UI/ml, probablement en début de traitement, tous avaient une charge virale faible  $\leq 2$  Log mais leur taux d'Ag HBs variaient entre 0.18 UI/ml et 39190.8 UI/ml.

Dans le cas des patients traités, la mesure du taux de l'Ag HBs prédirait la réponse au traitement et l'évolution des patients, un suivi à long terme est nécessaire pour confirmer son rôle.

## Conclusion

Depuis la découverte de l'antigène *Australia* et la particule de Dane, des progrès considérables ont été faits dans la connaissance de la structure, de la réplication et des marqueurs du VHB. L'Ag HBs reste le marqueur de l'infection au VHB et son titre sérique serait le reflet du taux d'ADNccc intra-hépatocytaire.

La mesure du taux de l'Ag HBs est un nouveau marqueur de suivi de l'hépatite B chronique associé à la charge virale. Elle permettrait de classer les patients dans l'histoire naturelle, de reconnaître un portage inactif, de prédire une réactivation et éventuellement la réponse au traitement par l'interféron, son rôle dans la prédiction de la réponse aux inhibiteurs nucléotidiques restant à préciser, mais son interprétation dépend de la phase de hépatite B, du génotype virale et du statut HBe.

Au terme de notre travail, on constate que même faible il existe une corrélation entre la charge virale de l'hépatite B et le taux de l'antigène HBs. L'interprétation reste difficile dans certaines situations, d'où la nécessité d'études complémentaires et sur des échantillons plus importants.

## A

- **Andrisani, O.M.**, “Deregulation of Epigenetic Mechanisms by the Hepatitis B Virus X Protein in Hepatocarcinogenesis”, *Viruses journal*, (2013), 5, 858-872.
- **Ankouan, F., Kowo, M., Njoya, O., Biwolé Sida, M., Tzeuton., C., Ndjitoyap Ndam, E.C.**, “Hépatite B chronique à Antigène Hbe Négatif à Yaoundé, Cameroun”, *Health sci*, (2015), 16 (3), 1-5.
- **Asselah, T., Lada, O., Boyer, N., Martinot, M., Marcellin, P.**, “Traitement de l’hépatite chronique B”, *Gastroentérologie Clinique et Biologique*, (2008), 32, 749-768.

## B

- **Ben-Alaya Bouafif, N., Bahri, O., Chlif, S., et al.**, "Heterogeneity of hepatitis B transmission in Tunisia: Risk factors for infection and chronic carriage before the introduction of a universal vaccine program", (2010), *Vaccine* 28; 3301-3307.
- **Benbekheti, S.**, "Hépatites virales hroniques B et C CHU Tlemcen 2001-2009", 6ème congré-Français de Médecines interne-Communication Orale-Oran, (2013).
- **Berkane,S.**, "Etude prospective anatomo-cliniques des hépatites chroniques d'origine virale de l'adulte", thèse pour le diplôme de doctortat d'état en siences médicales, (Alger 2003).
- **Bertholom, C.**, "Vaccination contre l’hépatite B : politique vaccinale et populations cibles", *Option Bio*, (2016), 537-538.
- **Billioud, G., Ait-Goughoulte, M., Zoulim, F.**, " Cycle de réplication du VHB et molécules antivirales", *Virologie*, (2013), S57-S73.
- **Biomnis.**, "Hépatite B", *Biologie médicale spécialisée*, (2012), 1-8.
- **Bordier, B.B., Ohkanda, J., Liu, P., Lee, S.Y., Salazar, F.H., Marion, P.L., Ohashi, K., Meuse, L., Kay, M.A., Casey, J.L., Sebti, S.M., Hamilton,A.D., Glenn, J.S.**, " In vivo antiviral efficacy of prenylation inhibitors against hepatitis delta virus", *The Journal of Clinical Investigation*, V.112, n°3, (August 2003), 407-414.
- **Bosa, B.**, "Itinéraires aborigènes: histoire des relations raciales dans le Sud-Est australien", *KARTHALA*, (2012), 657p.

- **Bouthry, E., Pivert, A., Ducancelle, A., Lunel-Fabiani, F.**, "Quantification de l'antigène HBs : intérêts et limites dans le suivi des patients infectés par le virus de l'hépatite B", *Immuno-analyse et biologie spécialisée*, (juillet 2012), 27, 332—338.
- **Bruss, V.**, "Hepatitis B virus morphogenesis", *World Journal of Gastroenterology*, (January 2007), 7; 13(1): 65-73.
- **Buffet, C.**, "Hépatite chronique virale B", *Revue française des laboratoires*, (décembre 2003), 358, 31-37.
- **Buffet, C.**, "Hépatite virale B", *Arch Mal Prof Env*, 2005, 66, 254-262.

## C

- **Catrice, M.**, "Prévention de l'hépatite B dans les populations migrantes originaires de zones de forte endémie: Afrique subsaharienne et Asie", UNIVERSITE PARIS 7 – DENIS DIDEROT, Thèse de doctorat en médecine, (2009), 25-26.
- **Chan, H.L., Wong, V.W., Tse, A.M., Tse, C., Chim, A.M., Chan, H., et al.**, "Serum hepatitis B surface antigen quantitation can reflect Hepatitis B virus in the liver and predict treatment response", *Clin Gastroenterol Hepatol*, (2007), 007; 5: 1462-8.
- **Chevaliez, S.**, "Tests virologiques dans les hépatites B et C", *Hépatogastro*, V. 15, n° 5, (septembre-octobre 2008), 345-353.
- **Clos, J.**, "Immunité chez les animaux et les végétaux", Lavoisier, France, (2012), 432p.

## D

- **Dane, D.S., Cameron, C.H., Briggs, M.**, "Virus-like particles in serum of patients with australiarn-antigen-associated hepatitis", *The lancet*, (April 1970), 4, 695-698.
- **Di Pumpo, A.**, "Prévention de l'hépatite B dans les populations migrantes originaires de zones de forte endemie: Afrique subsaharienne et Asie", UNIVERSITE PARIS 7 – DENIS DIDEROT, Thèse de doctorat en médecine, (2008), 35p.

## E

- **Elfassi, E.**, " Le gène X du vius de l'hépatite 8 : transactivateur et oncogène potentiel", *médecine/sciences*, (Janvier 1992), vol. 8, n ° 1. 16-25.
- **Elyse, P., Alain, H.**, "La PCR en temps réel: principes et applications", *Reviews in Biology and Biotechnology*, V. 2, n° 2, (December 2002), 2-11.

- **European Association for the Study of the Liver (EASL)**, "Prise en charge de l'hépatite chronique B", Gastroentérologie Clinique et Biologique, (Mai 2009), 33, 539-554.

## F

- **Forbi, J.C., Iperepolu, O.H., Zungwe, T., Agwale, S.M.**, "Prevalance of Hepatitis B Antigene in Chronic HBV Carriers in North-central Nigeria", J Health popul Nutr, (2012), 30(4): 377-382.
- **Funk, M.L., Rosenberg, D.M., Lok, A.S.**, "World-Wide epidimiology of Hbe Ag-negative chronic Hepatitis B and associated precore and core promoter variants ", J viral Hepat, (2002), 9; 52-61.

## G

- **Ganji, A., Esmailzadeh, A., Ghafarzadegan, K., Helalat, H., Rafatpanah, H., Mokhtarifar, A.**, "Correlation between HBsAg quantitative assay results and HBV-DNA levels in chronic HBV", Hep Monthly, (2011), 11: 342-5.
- **Garnier, D.**, "Dictionnaire illustré des termes de médecine ", Editions Maloine, France, (2006), 792p.
- **Goffard, A.**, "Infections par le virus de l'hépatite B", Université Lille 2 droit et santé, Faculté des sciences pharmaceutique et biologiques de Lille 2, (2012).
- **Gourari.S.**, "Analyse moléculaire de souche de virus des hépatites B et D provenant de patients Algériens", thèse pour obtention de grade de docteur en science médicale, (Alger 2012).
- **Gupta, E., Kumar, A., Choudhary, A., Kumar, M., Sarin, S.K.**, " Serum hepatitis B surface antigen levels correlate with high serum HBV DNA levels in patients with chronic hepatitis B: a cross-sectional study", Indian J Med Microbiol, (2012), 30:150-4.

## H

- **Haute Autorité de santé, (HAS)**, "Actualisation des actes de biologie médicale relatifs au diagnostic et à la prise en charge des hépatites B, C et D", (Janvier 2017), 14-15p.

- **Hézode, C.**, "Histoire naturelle de l'hépatite B", *Virologie*, (juillet 2010), V. 14 (supplément 1) : S5-S11.
- **Huroux, J.M., Agut, H., Nicolas, J.C., Peigue-Lafeuille, H.**, "Traité de virologie médicale", ESTEM Paris, (2003), 293-302.

## J

- **Jaillais, A., Mayne, A.H., D'Alteroche, L., Landau, A., Merrouche, Y., Vignot, S.**, "Hépatite B: dépistage et traitement en oncologie", *Bull Cancer*, (septembre 2017).

## K

- **Kay, A., Zoulim, F., Trepo, C.**, Structure, cycle virale et variation du virus de l'hépatite B. In: Denis, F., Trepo, C. *Virus des hépatites B et delta*. Paris: Elsevier. 15-40.
- **Khelifa, F., Thibault, V.**, "Caractéristiques des souches virales responsables d'hépatites B chroniques en Algérie du Nord-Est", *Pathol Biol*, (2009), 57: 107-113.
- **Kidd-Ljunggren, K., Holmberg, A., Blackberg, J., Lindqvist, B.**, "High levels of hepatitis B virus DNA in body fluids from chronic carriers", *Journal of Hospital Infection*, (June 2006), 64, 352-357.
- **Kitab, B., Essaid El Faydi, A., Affi, R., et al.**, "Hepatitis B genotypes /sub genotypes and MHR variants among Moroccan chronic carriers", *Journal of infection*, (2011), 63, 66-75.

## L

- **Lebosse, F., Zoulim, F.**, "Biologie moléculaire de l'ADN circulaire clos de façon covalente (ADNccc) du virus de l'hépatite B : impact physiopathologique et thérapeutique", *Hepato-Gastro et Oncologie digestive*, ( juin 2012), n° 6 vol 9, 437-445.
- **Lee, J.H., Kim, S.J., Ahn, S.H., Lee, J.H., Park, Y.J., Kim, H.S.**, " Correlation between quantitative serum HBsAg and HBV DNA test in Korean patients who showed high level of HBsAg", *J Clin Pathol*, (2010), 63: 1027-31.

- **Leluzzi, D., Covolo, L., Domato, F., Fattovich, G.,** "Progression to cirrhosis, hepatocellular carcinoma and liver-related mortality in chronic Hepatitis B patients in Italy", *Digestive and liver Disease*, (2014), 46: 427-432.
- **Lepère-Douard, C., Gripon, P.,** "Entrée du virus de l'hépatite B", *Virologie*, (juillet-août 2010), 14 (4) : 269-84.
- **Lunel-Fabiania, F., Massonb, C., Ducancelle, A.,** "Maladies systémiques et biomédicaments : comprendre, apprécier et prévenir le risque de réactivation d'hépatite B", *Revue du rhumatisme*, (2014).

## M

- **Martinot-Peignoux, M., Marcellin, P., Asselah, T.,** "Hépatite B : intérêt clinique de la quantification de l'AgHBs", *Ann Biol Clin*, (novembre 2013), 71 (spécial 1) : 19-26.
- **Martinot-Peignoux, M., Pham, B.N., Marcellin, P.,** "VHB : implications cliniques des nouveaux tests ADN VHB", *SPECTRA BIOLOGIE*, (Mai 2005), n° 145.22-25.
- **Maupas, P., Coursaget, P., Goudeau, A., Drucker, J.,** "Immunisation against Hepatitis B in man", *The Lancet*, (june 1976), 1367-1370.
- **Maylin, S.,** "Quantification de l'AgHBs : nouvel outil virologique pour la prise en charge de l'hépatite B chronique", *Revue Francophone des Laboratoires*, V.33, n° 447, (Décembre 2012), 33-43.
- **Michel, M.L.,** "Vaccination contre l'hépatite B", *médecine et sciences*, V. 32, n° 8-9, (août-septembre 2016), 739-45.
- **Michel, M.L.,** "Immunopathogenèse et approches vaccinales thérapeutiques de l'infection chronique par le virus de l'hépatite B", *Virologie*, (janvier-février 2014), 18 (1) : 25-33.
- **Moussard, C.,** "Biologie moléculaire". *Biochimie des communications cellulaires*, De Boek supérieur, 39-40.

## N

- **Nassal, M.,** "Hepatitis B viruses: Reverse transcription a different way", *Virus Research*, (March 2008), 134, 235–249.

## O

- **Organisation mondiale de la Santé (OMS).**, " Maladies évitables par la vaccination et vaccins", (2010), 111-112.
- **Organisation mondiale de la Santé (OMS).**, "Prévention et lutte contre l'hépatite virale", Suisse, (2012), 1-24.
- **Ouzan, D.**, "Quantification de l'antigène HBs : un témoin du statut du patient et de la réponse au traitement", POST'U, (2014), 1-7.

## P

- **Patient, R.**, Hourieux, C., Roingard, P., "Morphogenèse du virus de l'hépatite B", Virologie, V.12, n° 6, (novembre-décembre 2008), 453-464.
- **Pioche, C., Brouard, C., Chevaliez, S., Alric, L., Couzigou, P., Delaroque-Astagneau, E., et al.**, "Hépatite B chronique: prise en charge en France entre 2008 et 2011", Bull Epidemiol, Hebd, (2014), 12: 210-6.
- **Pol, S.**, "Épidémiologie et histoire naturelle de l'hépatite B", La revue du praticien, (2005), 55: 599-606.
- **Pol, S.**, "Histoire naturelle de l'infection par le virus de l'hépatite B", Presse Med., (février 2006), 35: 308-16.
- **Primadharsini, P.P., Wibawa, D.N.**, "Correlation between Quantitative HBsAg and HBV-DNA in Chronic Hepatitis B Infection", the Indonesian journal of Gastroenterology Hepathology and Degistive Endoscopy, (2013), Vol 14; n° 1; 9-12.

## R

- **Richard, S., Teder, Alison, J.R., Lori, F., Samfeen, L., et al.**, "The diversity and management of chronic hepatitis B virus infections in the United Kingdom: A Wake-up call", Cliniiical Infections Diseases, (2013) 56 (7) 951-60.
- **Rondo, A.**, "Quantification de l'antigène HBs: Impact sur l'Histoire naturelle de l'Hépatite B chronique. Resultats d'une cohorte prospective monocentrique", thèse pour le diplôme d'état de docteur en médecine, Université Toulouse III – Paul Sabatier, (2015).

- **Rougier, P., Mitry, E., Dominguez, S., Taib, J.,** "Les cancers digestifs", Springer-Verlag, France, (2006), 196p.

## S

- **Sbai, A.,** "Epidémiologie, gnotype et facteurs de risque de l'hépatite virale B au Maroc", thèse de doctorat en virologie, (Novembre 2012).
- **Schaefer, S.,** "Hepatitis B virus taxonomy and hepatitis B virus genotypes", World Journal of Gastroenterology, (January 2007), 13(1): 14-21.
- **Sebastiani, M., Atzeni, F., Milazzo, L., Quartuccio, L., Scirè, C.,** "Prise en charge de l'infection par le virus de l'hépatite B chez les patients atteints de polyarthrite rhumatoïde : conférence de consensus italienne", Revue du rhumatisme, (Mai 2017).
- **Seeger, C., Mason, W.S.,** "Molecular biology of hepatitis B virus infection", Virology, (February 2015).
- **Segondy, M.,** "Diagnostic et suivi biologique des hépatites virales", Rubrique Gastroentérologie-Hépatologie ou Infectiologie, (2005), 32(4) : 2-3
- **Soussan, P., Le Pendeven, C.,** "Virus de l'hépatite B", EMC Biologie clinique, (2010), 90-55-0110.

## T

- **Taibi, L., Guéchet, J.,** "Évaluation non invasive de la fibrose hépatique", Revue francophone des laboratoires, (Avril 2017), n°491, 38-44.
- **Thoma, L., Patrick, M.,** "Hépatite B: prévenir, détecter, traiter", Jhon Libbey Eurotext, France, (2009), 39-41.
- **Tse, C., Capeau, J.,** "Quantification des acides nucléiques par PCR quantitative en temps réel", Ann Biol Clin, V. 61, n° 3, (mai-juin 2003), 279-293.

## V

- **Vernay-Vaisse, C., Spenattob, N., Derancourt, C., Timsit, F.J., Fouérée, S., Pinault, A.L et la section MST de la SFD.,** "Dépistage des MST/IST", Annales de dermatologie et de vénéréologie, ( octobre 2016) 143, 703-709.

## W

- **Wagner, A., Denis, F., Ranger-Rogez, S., Loustaud-Ratti, V., Alain, S.**, "Génotypes du virus de l'hépatite B", *Immuno-analyse & Biologie spécialisée*, (décembre 2004), 330–342.
- **World Health Organization (WHO).**, "Guidelines On Hepatitis B and C Testing", (Februray 2017).

## Z

- **Zarski, J.P.**, "La vaccination contre le virus de l'hépatite B : réalité, inquiétudes et perspectives", *Hépatogastro*, V. 13, n° 1, (janvier-février 2006), 21-26.
- **Zoulim, F., Kay, A., Merle, P., Trépo, C.**, "Virologie de l'hépatite B", *EMC Hépatologie*, (2006), 7-015-B-30, 1-19.
- **Zoulim, F.**, "Nouveaux tests virologiques et leurs applications dans la prise en charge de l'hépatite B chronique", *Presse Med*, (2006) 35: 317-26.

## Annexe I : Fiche de renseignements des malades atteints de l'hépatite B et C.

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
 République Algérienne Démocratique et Populaire  
 وزارة الصحة والسكان وإصلاح المستشفيات  
 Ministère de la Santé de la Population et de la Réforme Hospitalière

**Institut Pasteur d'Algérie**

**معهد باسٲور بالجزائر**

### Fiche de renseignements PCR VHB et / ou VHC

**Identification du patient**  
 Nom et prénom : \_\_\_\_\_  
 Nom de jeune fille : \_\_\_\_\_  
 Sexe : \_\_\_\_\_  
 Date et lieu de naissance : \_\_\_\_\_  
 Etat civil : marié(e)  célibataire   
 Profession : \_\_\_\_\_

**Nom de la structure:**  
 Nom du Médecin : \_\_\_\_\_  
 Tél/Fax : \_\_\_\_\_  
 E-mail : \_\_\_\_\_

**ANALYSE(S) DEMANDEE(S) :**

**Renseignements cliniques**

**Stade de la maladie Hépatique :** Hépatite Chronique asymptomatique  Hépatite Chronique active   
 Cirrhose  CHC  Fibrose   
 Génotype VHC: \_\_\_\_\_ PBH : Oui  Stade : \_\_\_\_\_ Non :   
 Charges virales antérieures : Oui  Non

**Traitement VHC :** Oui  Non  **Traitement VHB :** Oui  Non   
 Durée du traitement : \_\_\_\_\_  
 Molécules antivirales : \_\_\_\_\_  
 Echec thérapeutique : Oui  Non:  Echec thérapeutique : Oui  Non

Antécédents Personnels : \_\_\_\_\_  
 Antécédents Familiaux d'hépatite: Oui  Non

**Facteurs de risque**

Hémodialyse		Soins dentaires réguliers	
Transfusion sanguine		Soins dentaires occasionnels	
Piercing		ATCD chirurgicaux	
Tatouage		Toxicomanie IV	
Professionnel de santé		ATCD IST	

**Autres facteurs de risque**

Alcool	
Diabète	
Obésité	
Tabac	

**Marqueurs virologiques**

AgHBs	
Ac anti-HBs	
Ac anti-HBc	
AgHBe	
Ac anti-HBe	
Charge virale VHB	
Ac anti-VHD	
Ac anti-VHC	

**Bilan Biologique**

ALAT	
ASAT	
Gamma GT	
Phosphatase alcaline	
Albumine	
Bilirubine totale	
Alpha foeto-protéine	
Créatinine	
Plaquettes	
Taux de prothrombine	
Fibrinogène	

**Date :** \_\_\_\_\_

Si des analyses similaires ont déjà été effectués à l'IPA, rappeler **obligatoirement** leurs numéros d'ordre ou bien les joindre à la fiche de renseignements.  
 Tout prélèvement doit **obligatoirement** être accompagné d'une fiche de renseignements correctement remplie, d'un bon de paiement ou d'une prise en charge du service demandeur.

Route du Petit Staoueli – Dely Ibram      Tél/Fax : 023 33 75 04 / 39  
 Annexe Sidi Fredj 021 37 68 50

## Annexe II : Fiche technique des prélèvements pour PCR.

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة الصحة والسكان وإصلاح المستشفيات  
Ministère de la Santé de la Population et de la Réforme Hospitalière

Institut Pasteur d'Algerie



معهد باستور بالجزائر

Département de Virologie  
Laboratoires des Virus des Hépatites  
Dr A. BENSALÉM

### FICHE TECHNIQUE DES PRELEVEMENTS POUR PCR

#### 1. PRELEVEMENT DES ECHANTILLONS

- Le sang doit être prélevé dans des tubes stériles **SEC** ou contenant de l'EDTA comme anticoagulant (**ne jamais utilisé les tubes héparinés ou contenant Z-clot activator**).
- Chez les hémodialysés le prélèvement doit se faire avant la séance de dialyse (avant l'injection de l'héparine).
- Ne pas conserver le sang total entre 2-25°C plus de 24 heures.
- Le test de PCR doit être effectué sur des échantillons de **PLASMA**.
- Afin de recueillir le **PLASMA**, centrifuger le sang total à 800 -1600 x g pendant 20 minutes, à température ambiante, dans la journée qui suit le prélèvement.
- Transférer le **PLASMA** dans des tubes stériles en polypropylène.
- Quantité de **PLASMA** : **2 tubes de 2 ml** minimum pour les besoins du laboratoire.

#### 2. TRANSPORT DES ECHANTILLONS

- Le transport de sang total ou de plasma doit s'effectuer conformément aux règlements en vigueur (pour le transport des agents infectieux).
- Le sang total doit être centrifugé dans la journée qui suit son prélèvement.
- Pour les longues distances, le **PLASMA** doit-être transporté entre 2-8°C.

#### 3. CONSERVATION DES ECHANTILLONS

Les échantillons de plasma peuvent être conservés:

- A température ambiante (20-30°C) pendant 3 jours maximum,
- Entre 2 - 8°C jusqu'à 7 jours
- A -20°C ou -80°C (congelés) pendant au moins 6 semaines.

**Annexe III** : Automate ARCHITECT i1000SR Abbott.



Automate ARCHITECT i1000SR Abbott

**Annexe IV : Appareillage utilisé en ELISA**



Incubateur



Vortex



Laveur automatique



Spectrophotomètre



Imprimante

## Annexe V : Coffret HBsAg Sensitive ELISA (DIALAB)



Coffret HBsAg Sensitive ELISA (DIALAB)

**Annexe VI** : Automate COBAS<sup>R</sup> Ampli Prep/COBAS<sup>R</sup> TaqMan<sup>R</sup> (Présentation des appareils de la PCR en temps réel).

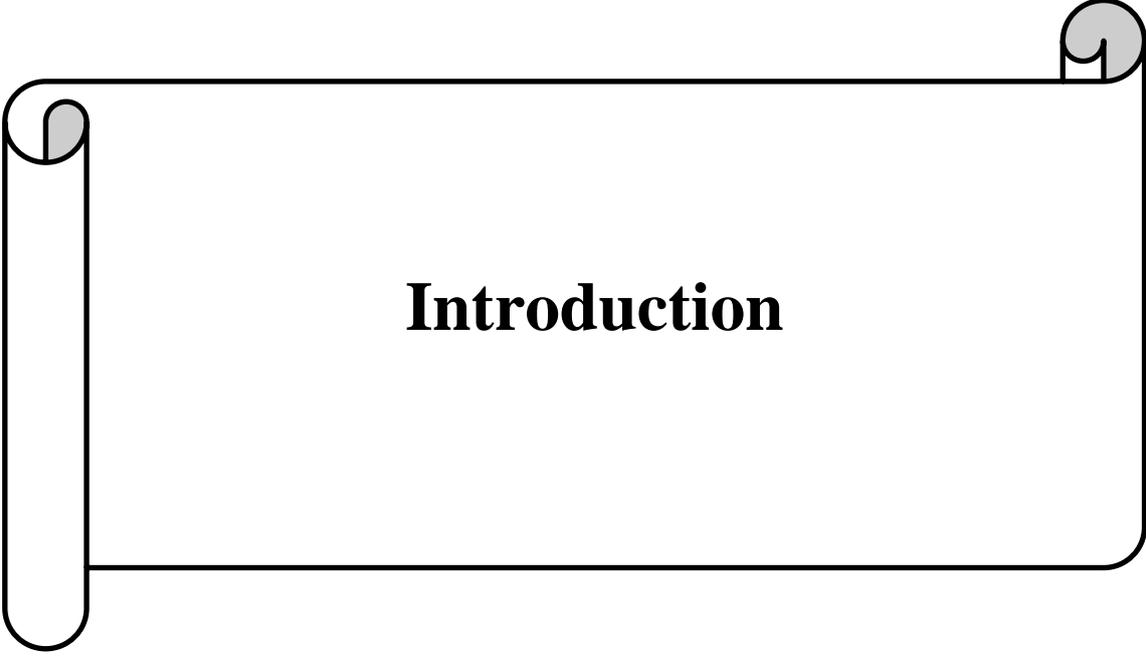


**Cobas AmpliPrep (Extracteur)**

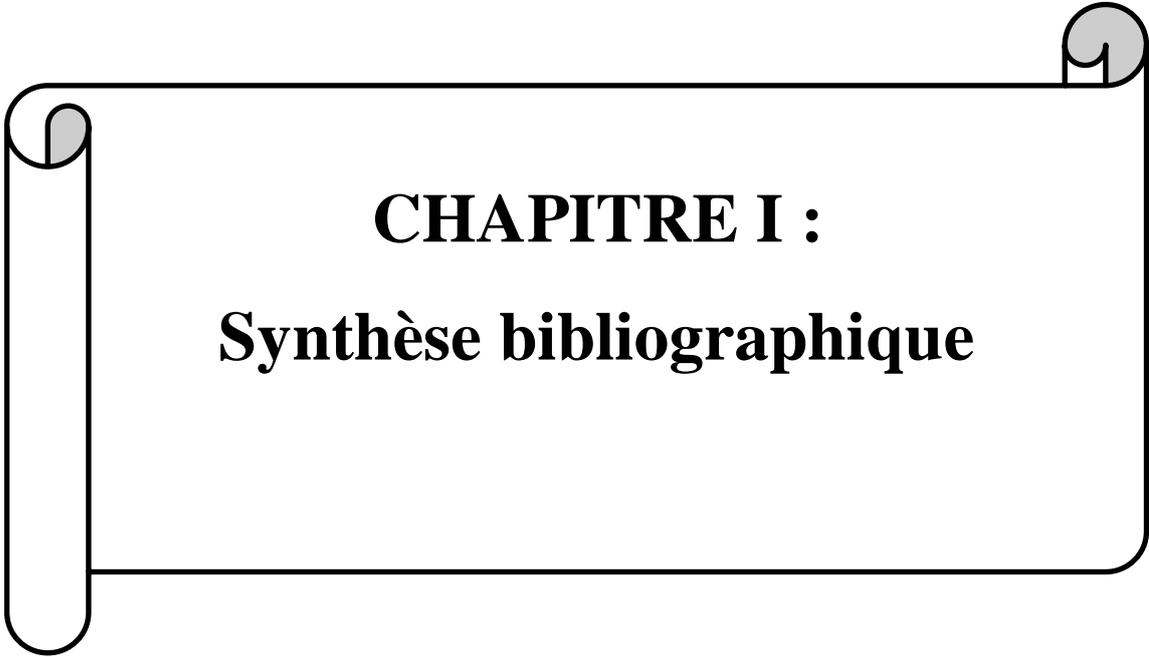


**Cobas TaqMan (Amplificateur)**

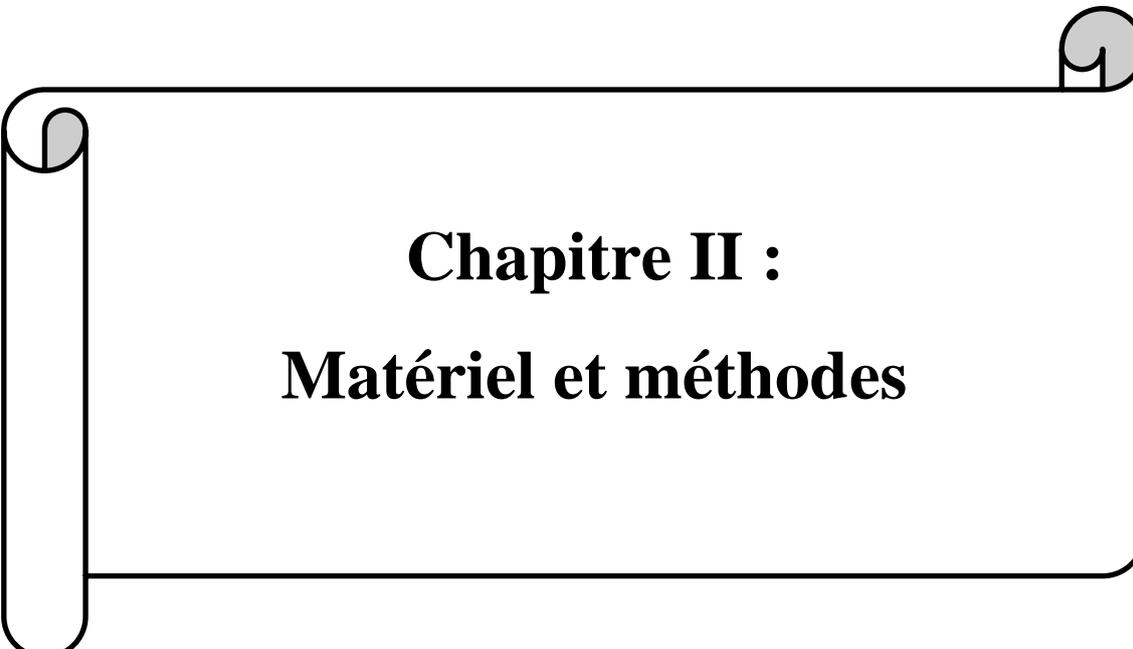


A graphic of a scroll with a black outline and a light gray shadow. The scroll is partially unrolled, with the word "Introduction" written in a bold, black, serif font in the center. The scroll has a vertical tail on the left side and rounded ends on the right side.

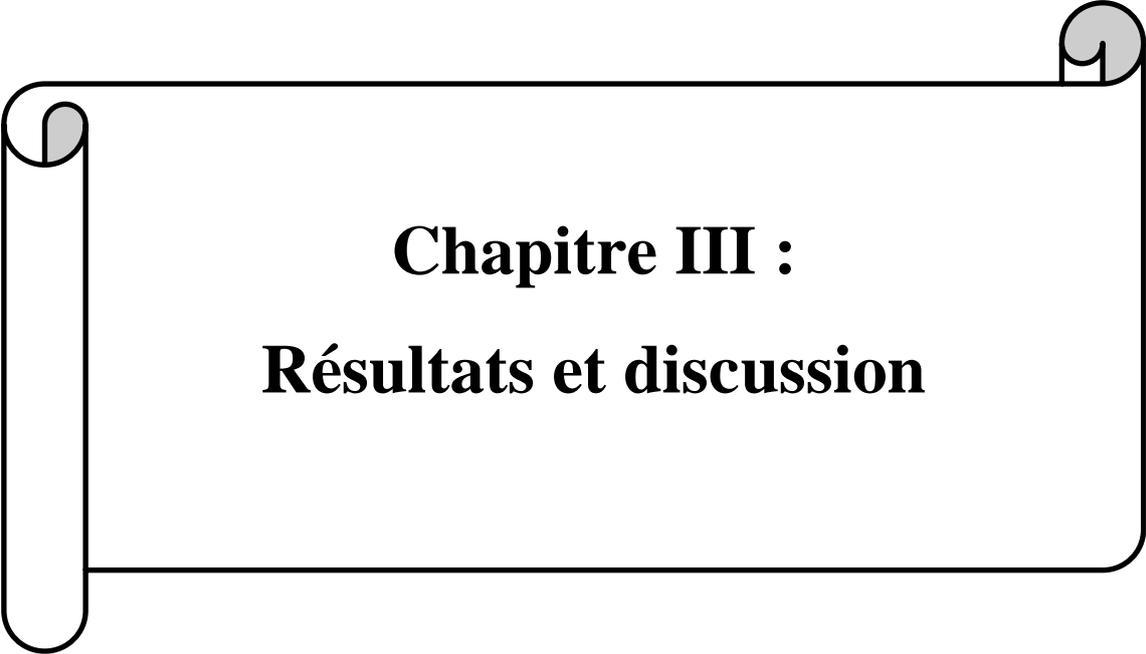
# **Introduction**



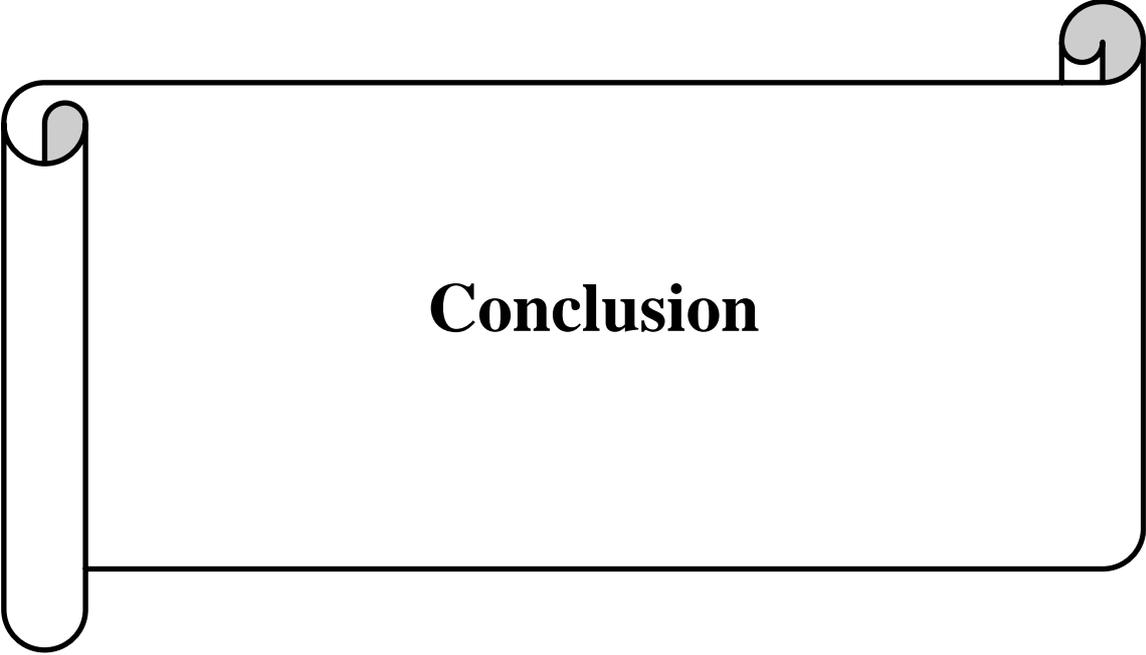
**CHAPITRE I :**  
**Synthèse bibliographique**



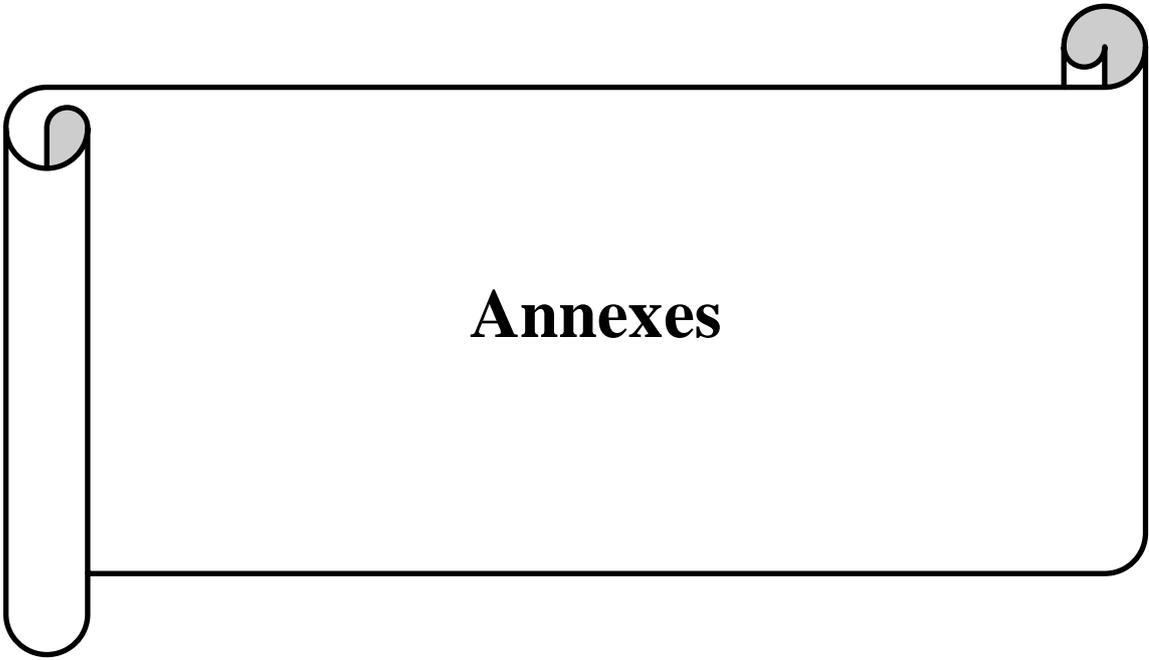
**Chapitre II :**  
**Matériel et méthodes**



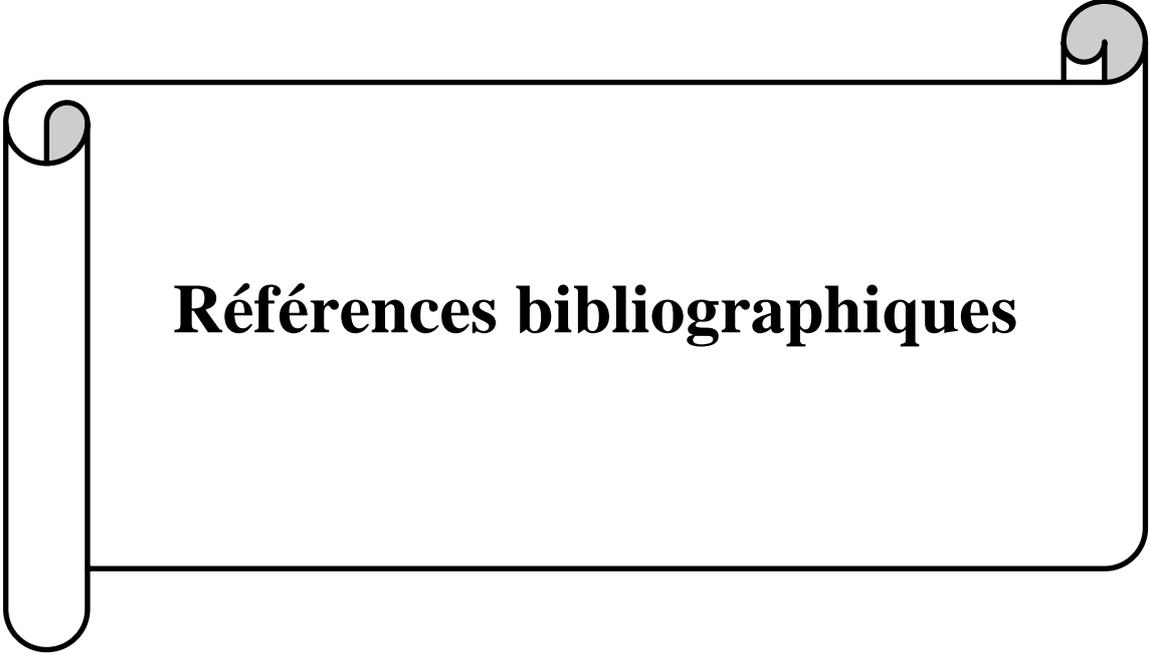
**Chapitre III :**  
**Résultats et discussion**



**Conclusion**



**Annexes**



**Références bibliographiques**