

Remerciement

Avant tout, nous remercions « Allah » tout puissant qu'il nous a guidé tout au long de nous vie, qu'il nous a donné courage et patience pour passer tous les moments difficiles, qu'il nous a permis d'achever ce travail et de pouvoir le mettre entre vos mains aujourd'hui. Un travail de recherche, nécessite le concours d'un certain nombre de personnes. Ce mémoire est aujourd'hui l'occasion de remercier toutes les personnes qui ont collaboré à ce travail.

*Nous souhaitons remercier vivement en premier lieu notre encadreur **Mme. Abdaoui Wissem** pour son excellent encadrement, sa vision objective, tout au long de ce mémoire, ses conseils pertinents avec écoute, amabilité et patience ont permis à notre travail d'aboutir et de voir le jour. Nous espérons que Dieu vous gardera toujours.*

*A **Mme. Hamdikan.M**, qui nous a honorés en acceptant d'être Président de ce jury. Nous aimerions profiter l'occasion pour vous remercier tout particulièrement parce que vous êtes vraiment une enseignante d'une grande compétence que nous avons appris lors de notre étude à l'université.*

*Notre gratitude, notre profond respect et nos remerciements vont à **Mme. Ayad.R** pour avoir accepté d'examiner notre travail. Cela a été une grande fierté pour nous qu'avons étudié chez une enseignante gentille, franche et affectueuse comme vous.*

*Un grand merci pour le personnel du service de bactériologie à l'hôpital Ibn Zohr de Guelma et spécialement à docteur **Dardar Djafer** qui nous a aidés à réaliser notre partie pratique.*

Enfin, nous remercions chaleureusement tous les enseignants de la faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de terre et l'univers de l'université 08 Mai 1945 de Guelma, de nous avoir transmis leurs savoirs le long de notre cycle universitaire. A toutes et à tous qui, de loin ou de près, ont contribué à la réalisation de ce mémoire.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail

A mes parents

Aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour dont ils ne cessent de me combler. Que dieu leur procure bonne santé et longue vie.

A celui que j'aime beaucoup et qui m'a soutenu tout au long de ce projet « **mon mari** » qui m'a toujours encouragée dans les études.

A ma fille « **nina** » et mon fils « **amine** », et bien sur A ma sœur « **Assia** » et mes frères « **Wahid** », « **Rahim** », « **Abd el Adim** »

A toute ma famille, et mes amis, A ma binôme « **Bouchra** ».

A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible, je vous dis merci.

Asma

Je dédie cet humble travail

A mes chers et respectueux parents

Vraiment aucune dédicace ne saurait exprimer mon attachement, mon amour et mon affection, je vous offre ce travail en témoignage de tous les sacrifices et l'immense tendresse dont vous m'avez toujours su me combler.

Je suis là aujourd'hui grâce à vous, je vous souhaite une longue vie pleine de santé et de bonheur et j'espère que Dieu vous gardera toujours.

A mes frères « Hamza » qui m'a appris à prononcer le français quand j'étais petite et **« Redwan »** qui m'a aidé du côté informatique et particulièrement ma sœur

« Selma » je vous remercie pour votre amour, votre attention et vos conseils pendant ma vie. Je vous aime et je vous souhaite tout le meilleur dans votre vie

A mes nièces « Joumana, Jihan, Ikram » je vous souhaite du succès dans votre vie.

A mon mari « Djaber » qui m'a soutenu et m'a compris tout au long de cette période.

A mon cœur ma grande mère **« Sarhouda »** paix à son âme j'espère qu'Allah vous pardonne et vous met au paradis.

A ma meilleure amie **« Iman »** et ma binôme **« Asma »**

Bouchra

Liste d'abréviations

Ac	Anticorps
ADN	Acide désoxyribonucléique
ADNccc	Covalently closed circular ADN
Ag	Antigène
AgHBs	Antigène de surface du virus de l'hépatite B
AgHBc	Ag de la capside «core» du virus de l'hépatite B
AgHbe	Ag «e» du virus de l'hépatite B
ALAT	Alanine Amino-Transférase
AN	Analogues nucléosidiques/nucléotidiques
Anti-HBs	Anticorps dirigé contre l'AgHBs du virus de l'hépatite B
Anti HBc	Anticorps dirigée contre l'AgHBc du virus de l'hépatite B
Anti-HBe	Anticorps dirigé contre l'AgHBe du virus de l'hépatite B
ARN	Acide ribonucléique
ARNpg	ARN pré-génomique
ASAT	Aspartate Amino-Transférase
CMH I	Complexe majeur d'histocompatibilité de classe I
CMH II	Complexe majeur d'histocompatibilité de classe II
CD	Les cellules dendritiques
CPA	Cellules présentatrices d'antigène
CHC	Carcinome hépatocellulaire
VHB	Virus de l'hépatite B
OMS	Organisation mondiale de la santé
DHV	Woodchuck hepatitis virus
DHBV	Duck Hepatitis B Virus (virus de l'hépatite B du canard)
EASL	European Association Study of Liver
ELISA	Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay
ELFA	Enzyme Linked fluorescent Assay
HBx	Protéine X du virus de l'hépatite B
IFN	Interféron-alpha
IgHB	Immunoglobulines spécifiques anti-HBs
IgM	Immunoglobuline de type M

Liste d'abréviations

IgG	Immunoglobuline de type G
IL-2	Interleukine 2
LB	Lymphocyte B
LSN	Limite supérieure de la normale
L	Grande protéine (L = large) d'enveloppe du virus de l'hépatite B
M	Protéine moyenne (M = médium) d'enveloppe du virus de l'hépatite B
NK	Natural Killer
PCR	Réaction en chaîne par polymérase
PegIFN	L'interféron alpha pégylé
RHM	Région centrale hydrophile majeure
S	Protéine majeure (S = Small) d'enveloppe du virus de l'hépatite B
TCD8	Les lymphocytes T cytotoxiques
TCD4	Les lymphocytes T auxiliaires (LT auxiliaires)
TM	Transmembranaire
TNF	Tumor Necrosis Factor
VHD	Virus de l'hépatite D
VHC	Virus de l'hépatite C
VHE	Virus de l'hépatite E
VIH	Virus de l'immunodéficience humaine

Liste des figures

Figure 01: Virus de l' hépatite B	3
Figure 02: Schématisation des différents types de particules virales	4
Figure 03: Multiplication du dans l'hépatocyte	8
Figure 04: Phases majeures de l'infection chronique	13
Figure 05 : Histoire naturelle de l'infection virale B	14
Figure 06: Etapes d'amplification par la technique PCR	25
Figure 07: Image d'un thermocycleur et microtubes	26
Figure 08: Différents types d'ELISA	27
Figure 09: Image des tests de diagnostic rapides (TDR)	28
Figure 10: Principe de l'immunochromatographie	29
Figure 11: Centrifugeuse de laboratoire	33
Figure 12: Automate Mini vidas	34
Figure 13: principe de dosage par ELFA	35
Figure 14: Mise en place des cartouches et cônes dans l'automate	36
Figure 15: Cartouches et cônes	36
Figure 16: Ouverture de la bandelette	37
Figure 17: placement de la bandelette dans le sérum	37
Figure 18: l'attente de l'apparition des résultats	38
Figure 19: Interprétations des résultats	39
Figure 20: Répartition du nombre annuel des patients enregistré durant la période.....	41
Figure 21: Répartition du nombre annuel des patients enregistré durant la période.....	41
Figure 22: Répartition du nombre annuel des patients enregistré en fonction de l'âge durant la période 2013-2019.....	42
Figure 23: Répartition du nombre annuel total des patients enregistré en fonction du sexe durant la période 2013-2019	43
Figure 24: Répartition du nombre annuel des patients enregistré en fonction de la technique de diagnostic durant la période 2013-2019	44
Figure 25: Répartition des malades enregistrés en fonction des services durant la période 2013-2019.....	45

Liste des tableaux

Tableau 1: Interprétation des marqueurs sérologiques du VHB .	24
Tableau 2: Répartition du nombre annuel des patients enregistré durant la période 2013-2019	40
Tableau 3: Répartition du nombre annuel des patients enregistré en fonction de l'âge durant la période 2013-2019.	42
Tableau 4: Répartition du nombre annuel total des patients enregistré en fonction du sexe durant la période 2013-2019	43
Tableau 5: Répartition du nombre annuel des patients enregistré en fonction de la technique de diagnostic durant la période 2013-2019	44
Tableau 6: Répartition des malades enregistrés en fonction des services durant la période 2013-2019.	45

Introduction

Le foie est l'organe le plus volumineux de l'organisme humain. Il assure des fonctions nombreuses, vitales à l'organisme. Ses atteintes sont multiples et perturbent parfois gravement la santé du corps humain, tel que la fibrose et la cirrhose hépatique, la stéatose, l'hépatite alcoolique, les hépatites médicamenteuses (1).

Le terme hépatite est utilisé pour désigner toute inflammation du foie, il vient du grec « hépar » signifiant foie. L'hépatite est généralement causée par une infection virale, mais elle peut également être due à des agents ou à des poisons chimiques, à des médicaments, à des bactéries ou toxines bactériennes. On distingue deux catégories d'hépatites : les hépatites dites « post-transfusionnelles » ou « sériques » (hépatites B, C et D), transmises par le sang, les produits biologiques ou les sécrétions et les hépatites épidémiques (hépatites A et E) de transmission oro-fécale (Bekondi, 2008).

Nous nous intéresserons aux virus de l'hépatite B qui est le plus virulent et à risque d'évolution, après une phase aiguë, vers une hépatite chronique avec risque de cirrhose et de carcinome hépatocellulaire. L'hépatite B est une maladie infectieuse grave, extrêmement contagieuse, qui provoquerait plus de 600 000 décès par an dans le monde. On estime à 2 milliards le nombre de personnes touchées par cette maladie, dont plus de 350 millions sont des porteurs chroniques capables de transmettre le virus pendant des années. Entre 15 et 40 % de ces derniers développent des complications hépatiques de type cirrhose, lésion du foie hépatocarcinome, ce dernier constituant le cinquième cancer le plus fréquent dans le monde (Douard, 2009).

L'Algérie pays considéré comme «émergent» en pleine transition épidémiologique appartient à la zone de moyenne endémicité, avec une prévalence de l'Ag HBs 2,16% dans la population générale. Estimation des porteurs chroniques de VHB ; 763 000, Taux d'incidence est passé de 0.33 à 0.44 cas pour 100 000 habitants en 2011 (Hellel, 2015).

Le virus présent dans de nombreux fluides corporels tels que le sang, la salive, le sperme et la sueur des individus infectés est facilement transmis par contact avec ces fluides et est 50 à 100 fois plus infectieux que le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) (Parkin et al, 2001).

Introduction

Une stratégie de diagnostic et de prise en charge précoce de l'infection par le virus de l'hépatite B s'avère nécessaire pour réduire son impact (Lauer, 1992).

Depuis plus de 20 ans, il existe un vaccin contre l'hépatite B dont l'efficacité et l'innocuité sont reconnues. La prévention vaccinale permettrait d'éviter au moins 85% à 90% des décès liés à l'infection à VHB, La prévention des infections chroniques à VHB vise à réduire également le réservoir principal pour la transmission de nouvelles infections (Belaouira et Kiniouar, 2016).

L'objectif principal de notre travail porte sur la recherche de l'antigène HBs de virus de l'hépatite B dans la région de Guelma. Nous avons réalisé une étude rétrospective au sein du laboratoire de bactériologie au niveau de la wilaya de Guelma afin de mettre en évidence des malades atteints du virus de l'hépatite B. Un diagnostic de la maladie est réalisé par l'application de la technique immunologique ELFA et les tests rapides. Ainsi, au cours de notre stage (mars_avril 2019) et par collaboration avec le service de bactériologie du hôpital Ibn Zohr, et dans un deuxième temps, l'étude va mener aussi à faire une répartition du nombre de patients en fonction (l'âge, sexe, technique de diagnostic, service) en effectuant une étude statistique descriptive.

Chapitre 1 Synthèse Bibliographique

I. Généralité sur l'hépatite B

1. Définition de l'hépatite B

L'hépatite B est une affection du foie due au virus de l'hépatite B (VHB). Ce virus perturbe la fonction hépatique et entraîne des lésions pathologiques. Un faible pourcentage des personnes infectées n'arrive pas à éliminer le virus et l'infection devient alors chronique, ce qui fait augmenter le risque de décès d'une cirrhose ou d'un cancer du foie (OMS, 2015).

2. Virus pathogène

Caractérisé par un génome d'ADN circulaire, partiellement double brin et utilisant une ADN polymérase ARN-dépendante (transcriptase inverse) et ADN-dépendante associée à une RNaseH dans son cycle de réplication virale, le VHB appartient à la famille des *Hepadnaviridae*.

La famille des *Hepadnaviridae* est composée du genre orthohépadnavirus infectant les mammifères, comprenant 9 membres dont le VHB et le WHV («Woodchuck Hepatitis Virus », infectant la marmotte) et le genre avihépadnavirus infectant les oiseaux, comprenant 6 membres dont le DHBV (« Duck Hepatitis B Virus », infectant le canard) (Mason et al. 1980).

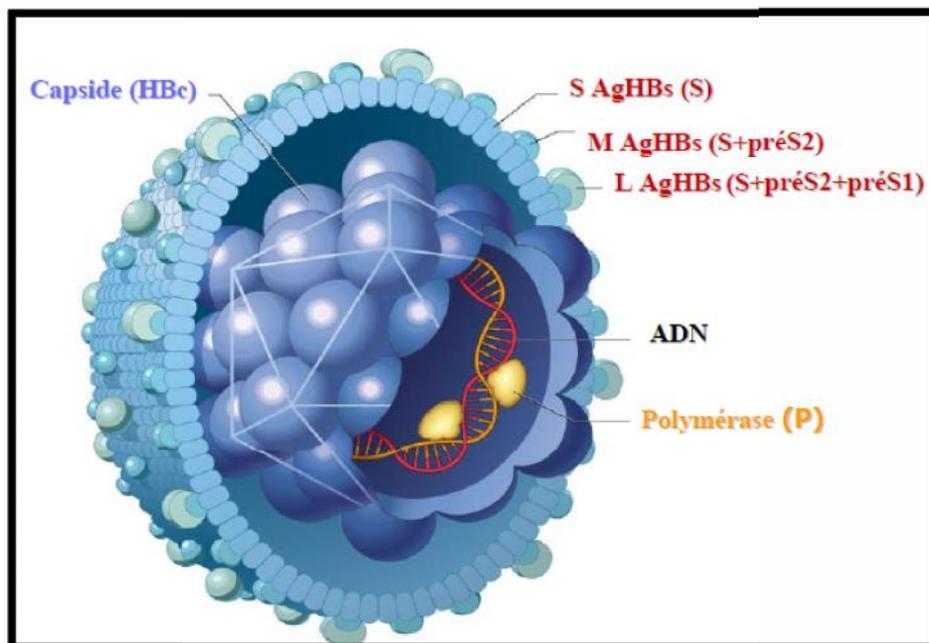


Figure 01: Virus de l' hépatite B (2)

Chapitre 1 : Synthèse Bibliographique

2.1 Structure du virus de l'hépatite B

L'examen du sang infecté par le VHB montre l'existence de trois formes circulantes.

2.1.1 Particule virale complète

Le virion complet ou particule de Dane étant la particule infectieuse, de forme sphérique, de petite taille 44 nm de diamètre, est formé :

- D'une enveloppe externe formée d'une bicouche lipidique dans laquelle sont insérées les protéines virales de surface (S, M, L).
- D'une nucléocapside centrale de 27 nm de diamètre portant l'antigène de capsid (Ag HBc) et l'Ag HBe, et à l'intérieur de laquelle se trouve le génome du VHB.
- D'une polymérase virale qui possède une activité de transcription inverse et une activité d'ADN polymérase.

2.1.2 Particules sous virales

Retrouvées dans le sérum en très grande quantité, leur taux peut être 10000 fois supérieur à celui du virus complet. Ce sont des enveloppes lipoprotéiques vides, non infectieuses, constituées de lipides d'origine cellulaire et d'antigène viraux correspondant aux trois glycoprotéines de surface S, M et L. Elles se présentent sous deux formes :

- ❖ Une forme sphérique de 22 nm de diamètre.
- ❖ Une forme filamenteuse de 22 nm de diamètre à 250 nm de longueur (Mallem, 2015).

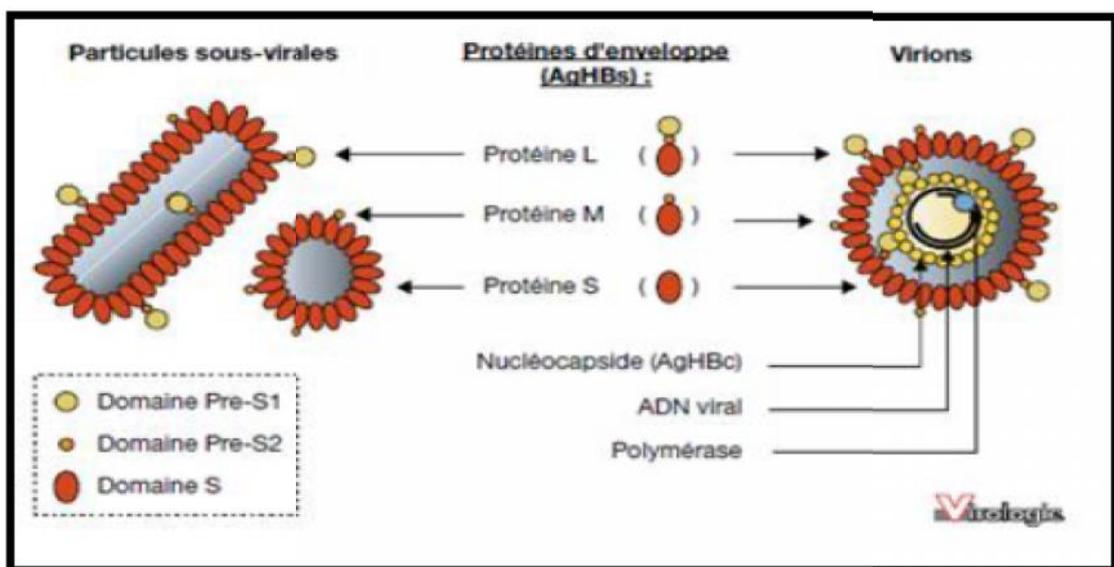


Figure 02: Schématisation des différents types de particules virales (Douard, 2009)

Chapitre 1 : Synthèse Bibliographique

2.2 Génome de VHB

Le génome du VHB est une molécule d'ADN circulaire relâché, partiellement double brin et d'environ 3,2 kb (Ahodantin, 2017). Il comporte quatre (4) régions codant pour les protéines qui constituent le virus de l'hépatite B.

- ❖ La région S précédée de régions pré S1 et pré S2 : codant pour l'enveloppe antigène HBs de surface (Ag HBs).
- ❖ La région C codant pour la capsid antigène HBc et Antigène HBe.
- ❖ La région P codant pour l'ADN polymérase qui assure la réplication virale.
- ❖ La région X qui a probablement une action dans la transaction de la réplication du virus de l'hépatite B (DAOU, 2018).

2.3 Protéines virales

2.3.1 Protéines d'enveloppes

Le cadre de lecture S composée du gène S, de la région préS1 et de la région préS2, code les trois protéines de l'enveloppe L, M, et S, de tailles différentes.

La protéine S est toujours la protéine majoritaire, cependant la protéine M est toujours présente à un taux constant (10%). Le taux d'expression de la protéine L régit le type de particules formées.

Ces trois protéines forment, avec une bicouche lipidique d'origine cellulaire, l'enveloppe des particules virales.

A. Protéine S

Composée de 226 acides aminés, la protéine S est la plus petite des 3 protéines, elle constitue le composant majeur de l'enveloppe virale et également des vaccins anti-VHB.

Cette protéine membranaire possède quatre régions hydrophobes et transmembranaires (TM) avec une large région centrale hydrophile majeure (RHM) exposées à la surface de la particule virale.

Une partie de la RHM, le déterminant « a » (résidus 124-147) participe probablement dans la reconnaissance des hépatocytes par le virion et elle est la cible majeure des Ac anti-HBs neutralisants.

Chapitre 1 : Synthèse Bibliographique

B. Protéine M

Composées de 281 acides aminés, elle possède les mêmes séquences et la même topologie membranaire que la protéine S, mais ne semble pas être essentielle pour la morphogénèse des particules infectieuses.

C. Protéine L

Composée de 329 acides aminés, elle résulte de la traduction de toute la phase ouverte de lecture. Cette protéine est essentielle à la maturation virale et à la formation des particules virales infectieuses.

D. Protéine X

C'est une petite protéine de 154 acides aminés codée par le plus petit cadre de lecture du VHB, le gène X. La protéine HBx semble être un cofacteur dans le développement de l'hépatocarcinome.

2.3.2 Polymérase virale

Codée par le gène P (80%) du génome, la polymérase virale est une protéine de taille variable, d'environ 850 acides aminés, elle est à la fois une polymérase ARN dépendante (transcriptase inverse), et ADN dépendante (ADN polymérase).

2.3.3 Antigène HBc et Antigène HBe

Ces deux protéines sont codées par le cadre de lecture C, qui contient la séquence pré-C et le gène C, ce qui permet la synthèse à la fois de la protéine de capsid (Ag HBc) et la protéine pré-core, précurseur de l'antigène HBe.

La protéine de capsid l'Ag HBc, protéine structurale majeure de la capsid, est composée de 183-185 acides aminés, les 144 premiers acides aminés sont nécessaires à l'encapsidation du génome du VHB alors que les acides aminés 165 à 173 sont indispensables pour la réplication complète du génome viral.

L'Ag HBc est exprimé à la surface des hépatocytes où il induit des réactions de cytolyse de la part des lymphocytes T CD8+, et contrairement à l'Ag HBs, il n'apparaît pas dans le sang. Cet antigène est très immunogène, il contient des sites de localisation nucléaire qui permettent

Chapitre 1 : Synthèse Bibliographique

de diriger l'ADN viral vers le noyau de l'hépatocyte. L'apparition d'Ac anti-HBc est le premier marqueur de l'infection aigue par le VHB.

Ces Ac anti HBc ne sont pas neutralisants, ils sont le témoin d'une infection aigue en cours, d'une infection ancienne résolue ou d'une infection chronique.

L'Ag HBe, plus petit que l'antigène HBc, sa présence semble être liée à la phase de répllication active du virus. La séroconversion vers l'Ac anti-HBe signe en général la fin de la répllication virale active et le début de la résolution de l'hépatite (Mallem, 2015).

2.4 Propriétés physico-chimiques

Bien qu'il soit enveloppé, le VHB est relativement résistant. En effet, à l'extérieur de l'hôte, le VHB survit dans le sang pendant plusieurs semaines. Il est le seul virus enveloppé capable de résister pendant 7 jours à 25°C dans l'environnement. L'infectivité d'un sérum contagieux est stable à 37°C pendant 60 minutes et persiste pendant des années à -70°C. Le VHB est sensible à l'hypochlorite de sodium à 5%, à l'éthanol à 70%, au glutaraldéhyde à 2%, et au formaldéhyde. L'infectivité est cependant détruite après quelques minutes à 100°C. (Bekondi, 2008)

2.5 Multiplication du VHB dans l'hépatocyte infecté

Après l'endocytose du virus, la nucléocapside virale migre jusqu'au noyau et libère le génome viral au niveau d'un pore nucléaire. Dans le noyau de l'hépatocyte, le 2ème brin de l'ADN viral est complété puis le génome se circularise et se compacte en cccDNA (pour covalently closed circular DNA). Ce cccADN ou ADN superenroulé sert de matrice à la transcription virale. Ce cccDNA a une très longue demi-vie et pourrait persister même au-delà de la « guérison biologique » (séroconversion du système HBs).

Le cccDNA permet la transcription de 4 ARN viraux non épissés, dont l'ARN pg, plus grand que le génome viral. Dans le cytoplasme de l'hépatocyte, la première étape de la répllication passe par l'incorporation d'un ARN pg et d'une molécule de polymérase virale dans une capsid intra-cytoplasmique constituée de protéines HBc et prenant spontanément une structure icosaédrique. Cette structure forme une nucléocapside. L'ARN pg est ensuite rétrotranscrit en ADN génomique sous sa forme définitive (ADN circulaire partiellement bicaténaire) par l'ADN polymérase virale, douée d'une activité transcriptase inverse. La présence de cette activité enzymatique de transcriptase inverse explique la sensibilité du VHB

Chapitre 1 : Synthèse Bibliographique

au traitement par des analogues nucléos(t)idiques qui ont d'abord été connus pour leurs activités anti-VIH.

Le VHB n'est pas un virus cytopathique et sa multiplication au sein des hépatocytes ne provoque généralement pas de cytolysse. C'est la réponse immunitaire de l'hôte, en particulier l'immunité à médiation cellulaire, dirigée contre les protéines virales exprimées à la surface des hépatocytes qui est responsable de la cytolysse. Schématiquement, une réponse immunitaire adaptée mènera à la guérison, une réponse trop intense se traduira par une hépatite sévère voire fulminante alors qu'une réponse de faible intensité contribuera à l'établissement d'une infection chronique.

Le principal site de multiplication du VHB est constitué par le foie et les hépatocytes. Les lymphocytes constituent un réservoir accessoire extra-hépatique rendant compte de la réinfection par le VHB du foie greffé en absence de traitement antiviral post-greffe (Virologie, 2017).

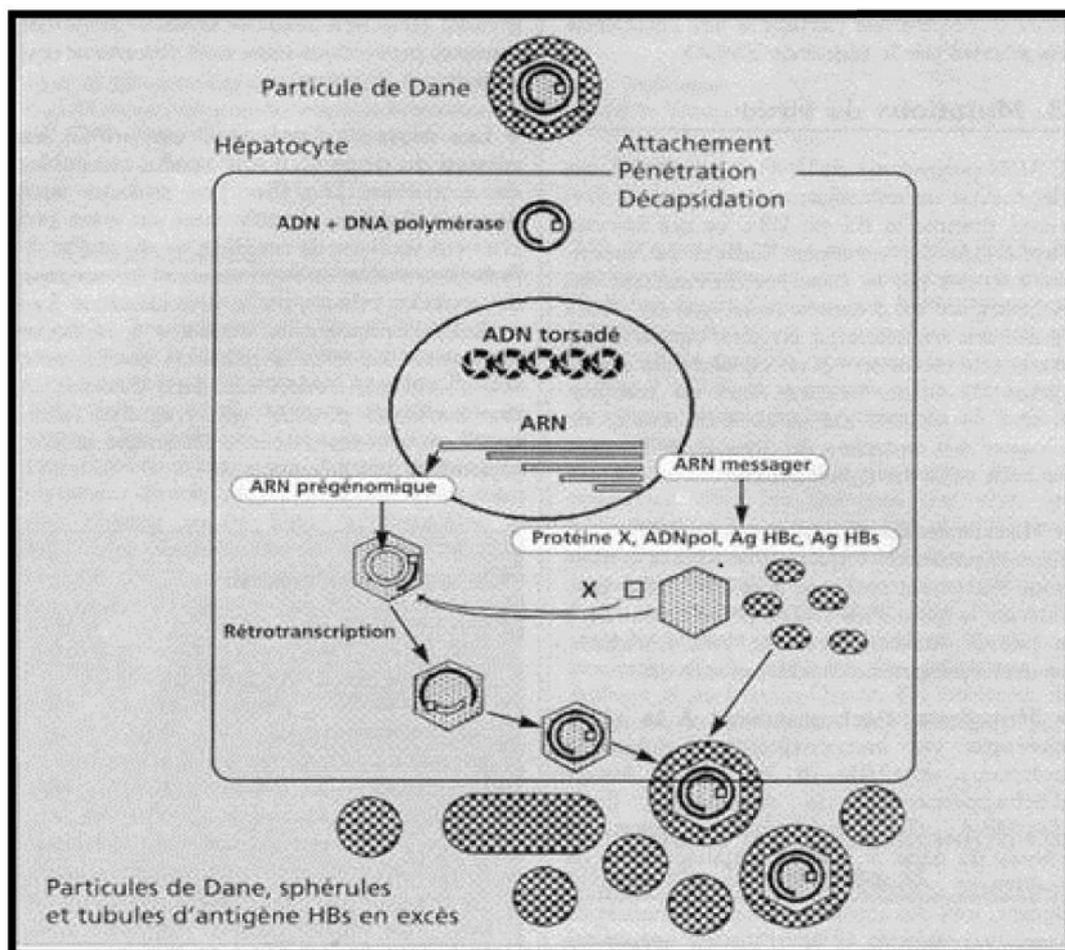


Figure 03: Multiplication du VHB dans l'hépatocyte (3)

Chapitre 1 : Synthèse Bibliographique

3. Modes de transmission

Comme tous les *Hepadnaviridae*, le VHB infecte et se réplique principalement dans les hépatocytes. De faibles quantités de VHB ont cependant, été détectées dans le pancréas, les reins, la peau, les spermatozoïdes et les PBMC « Peripheral blood mononuclear cells »

Les formes de répllication du VHB, habituellement non détectées dans les cellules non hépatocytaires.

Ces dernières pourraient jouer un rôle de réservoir viral et expliquer l'échec de la thérapie par transplantation hépatique chez certains patients (Pontisso et al. 1984, Pasquinelli et al. 1986, Lieberman et al. 1987).

3.1 Transmission parentérale

La transmission sanguine est un mode de transmission de l'infection par le virus de l'hépatite B par manque de technique adéquate de dépistage du virus de l'hépatite B chez les donneurs de sang. La transmission est aussi parentérale par exposition percutanée ; par toxicomanie intraveineuse ; par accident d'exposition au sang (piqûre par un matériel mal stérilisé).

D'autres modes de contamination parentérale existent comme la contamination accidentelle du personnel de santé, l'excision, les scarifications et les tatouages.

3.2 Transmission sexuelle

L'hépatite B est une infection sexuellement transmissible. Le virus de l'hépatite B se transmet facilement par des rapports sexuels non protégés avec une personne porteuse de l'antigène du virus de l'hépatite B. Le risque de contamination par voie sexuelle peut varier de 30 à 80%.

La contamination peut se faire de la femme vers l'homme ou de l'homme vers la femme.

3.3 Transmission verticale ou materno-foetale

La transmission verticale du virus de l'hépatite B de la mère à l'enfant est due à l'exposition du nouveau-né aux sécrétions maternelles lors du passage dans la filière génitale ou pendant la période néonatale. Il semble exister un passage trans-placentaire du virus de l'hépatite B

Chapitre 1 : Synthèse Bibliographique

qui entraîne une immuno- tolérance chez le nouveau- né. Celui-ci devient porteur chronique du virus de l'hépatite B. Le dépistage du virus de l'hépatite B est obligatoire chez la femme enceinte. Si ce dépistage est positif, une sérovaccination de l'enfant sera réalisée à la naissance.

3.4 Transmission horizontale

L'infection par le virus de l'hépatite B chez les enfants de mères séronégatives pour le virus de l'hépatite B. Il existe aussi une contamination horizontale d'enfant à enfant. Chez l'adulte comme chez l'enfant, bien qu'une transmission parentérale par objets usuels (rasoirs, brosses à dents, couteau... etc) soit possible, le contact étroit par échange de liquides organiques comme la salive peut jouer un rôle important.

La transmission nosocomiale est également possible par des pratiques non hygiéniques et des gestes invasifs (DAOU, 2018).

4. Symptômes

4.1 Signes cliniques

L'hépatite B est généralement asymptomatique dans 90 % des cas. Pour les autres, les signes qui apparaissent peuvent être :

- l'anorexie,
- une douleur au foie,
- des nausées, vomissements,
- une fatigue extrême,
- une coloration foncée des urines
- une jaunisse (ictère) de la peau et des yeux. (4)

4.2 Signes para cliniques

Les signes biologiques non spécifiques témoignant d'une atteinte hépatique sont : hypertransaminasémie persistante (supérieure à 1,5 à 3 fois la normale) association inconstante avec une choléstase ictérique (élévation des phosphatases alcalines, du gamma GT et de la bilirubine conjuguée) (DAOU, 2018).

Chapitre 1 : Synthèse Bibliographique

5. Histoire naturelle de l'infection virale B

L'histoire naturelle de l'hépatite chronique B est complexe, passant par différentes phases, sa connaissance est importante et fondamentale dans la prise en charge du malade, notamment pour la décision d'instaurer le traitement antiviral.

5.1 Hépatite aigue

5.1.1 Hépatite aigue habituelle

La durée d'incubation varie de 1 à 3 mois. Elle est généralement asymptomatique dans la petite enfance et symptomatique chez 30-50% des patients à l'âge adulte. La fréquence des formes symptomatiques augmente avec l'âge au moment de la contamination.

Dans la forme classique, on observe une phase pré-ictérique de 3-7 jours faite de symptômes non spécifique, l'ictère dure 2 à 3 semaines, l'activité des transaminases est augmentée de 10 à 30 fois la valeur supérieure de la normale.

L'évolution des marqueurs sérologiques peut être résumée de la façon suivante :

- Ag HBs est détecté 3 semaines avant le début des signes cliniques et disparaît dans le mois suivant, sa persistance au-delà de 2 mois fait craindre un passage à la chronicité.
- Ac anti HBc apparaissent dès le début de l'infection (type IgM) et persistent après la guérison sous forme d'IgG.
- Ag HBe apparaît peu avant l'ictère et disparaît dès le début des signes cliniques, avec l'apparition des Ac anti HBe.
- Après la guérison de l'épisode aigue, l'Ag HBs disparaît, les Ac anti HBs neutralisants sont détectés de façon retardée (1 à 6 mois) (Mallem, 2015).

5.1.2 Hépatite fulminante

L'hépatite fulminante complique environ 1% des hépatites aiguës symptomatiques. Elle est définie par l'apparition d'une encéphalopathie hépatique associée à une diminution du facteur V survenant dans les 15 premiers jours de l'ictère. La mortalité globale en l'absence de transplantation hépatique est d'environ 80%. L'hypothèse physiopathologique serait une réponse immune exacerbée, entraînant une destruction massive des hépatocytes infectés (Chevaliez et al, 2018).

Chapitre 1 : Synthèse Bibliographique

5.2 Infection chronique par le VHB

5.2.1 Hépatite chronique

Le portage chronique du VHB est défini par la persistance plus de 6 mois de l'antigène HBs. L'hépatite chronique B associée au portage de l'Ag HBs, une réplication virale élevée, une augmentation permanente ou intermittente des ALAT et une activité nécrotico-inflammatoire à l'examen histologique du foie.

L'infection chronique par le VHB est un processus dynamique complexe reflétant l'interaction entre la réplication virale et la réponse immunitaire de l'hôte. L'infection chronique par le VHB est classiquement décrite en 5 phases (Chevaliez et al, 2018).

a. Phase de tolérance immunitaire

Cette phase est caractérisée par la présence de l'Ag HBe, une réplication virale très élevée et une activité sérique des ALAT inférieure à la LSN. Au niveau hépatique, une absence d'activité avec peu ou pas de fibrose est généralement observée du fait d'une réponse immunitaire faible ou absente.

Néanmoins, au cours de cette phase on assiste à une intégration importante de l'ADN viral suggérant que l'hépatocarcinogénèse débute précocement au cours de l'infection chronique (Chevaliez et al, 2018). Cette phase peut durer des décennies en cas d'infection périnatale. Lorsque l'hépatite est acquise à l'âge adulte, cette phase correspond à la période d'incubation de l'hépatite aiguë (Mallem, 2015).

b. Phase d'activité immunitaire

Cette phase peut durer de quelques mois à plusieurs années. Elle correspond à la mise en place d'une réponse immunitaire entraînant une lyse des hépatocytes infectés aboutissant à des lésions histologiques d'hépatite chronique avec constitution d'une cirrhose dans 10-20% des cas (Mallem, 2015). Elle est caractérisée par la présence de l'Ag HBe, une réplication virale très élevée et une activité sérique des ALAT supérieure à la LSN (Chevaliez et al, 2018).

c. Phase de portage inactif

Chapitre 1 : Synthèse Bibliographique

Une phase d'hépatite chronique à Ag HBe négatif marquée par une nécro-inflammation persistante, une charge d'ADN viral modérée ou élevée et une atteinte hépatique accrue (Ahodantin, 2017).

d. Phase « Non réplivative »

Autrefois dénommée phase de portage viral inactif se traduit par une charge d'ADN viral sérique faible ou indétectable, un statut Ag HBe négatif (séroconversion) et un niveau normal des ALT. Cette phase correspond à un état de contrôle immunologique de l'infection virale que ce soit de façon spontanée ou à la suite de traitements antiviraux (Ahodantin, 2017).

e. Phase AgHBs-négatif

Cette phase est caractérisée par une absence d'AgHBs avec ou sans anticorps anti-HBs associée à la présence d'anticorps anti-HBc. Cette phase est également connue sous le nom d'hépatite B occulte. L'absence de détection d'AgHBs peut être la conséquence de la faible sensibilité des trousse diagnostiques utilisées pour la détection de ce marqueur. Les patients ont généralement une activité sérique des ALAT inférieure à la LSN et un niveau de répllication virale faible ou nulle (Chevaliez et al, 2018).

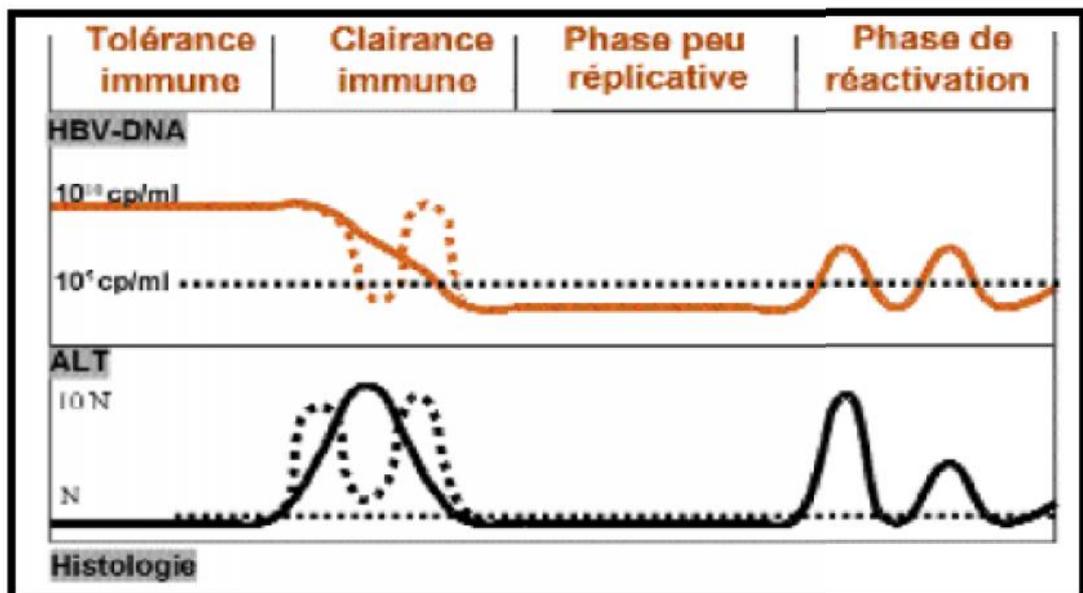


Figure 04: Phases majeures de l'infection chronique (5)

Chapitre 1 : Synthèse Bibliographique

5.2.2 Cirrhose

La cirrhose est une forme sévère d'évolution de l'hépatite B chronique. Progressivement, les cellules détruites sont remplacées par du tissu cicatriciel et l'hépatite évolue ainsi vers la cirrhose. Dans le parenchyme hépatique, il existe des nodules de régénération au sein d'une fibrose. Ces foyers pourraient provenir d'une prolifération d'un seul hépatocyte. A un stade tardif, les signes cliniques d'insuffisance hépatocellulaire ou d'hypertension portale apparaissent. L'évolution se fait vers une insuffisance hépatique pouvant conduire au décès (Bekondi, 2008).

En effet, les facteurs de risque de survenue de cirrhose peuvent être l'âge avancé de l'hôte, une immunodépression, les surinfections par le VHD, VHC, VIH, une intoxication alcoolique et une consommation de tabac (Mallem, 2015).

5.2.3 Carcinome hépatocellulaire

Le carcinome hépatocellulaire (CHC) est une tumeur épithéliale développée à partir des hépatocytes. Il représente la forme majoritaire de cancer primitif du foie. Cette tumeur au pronostic sévère vient au 5ème rang mondial pour la fréquence des cancers humains, et au 3ème rang pour les causes de mortalité par cancer. Le CHC constitue un problème majeur de santé publique, en particulier dans les pays de forte endémie du VHB (Asie, Afrique Sub-saharienne) où plus de 80% du total mondial de nouveaux cas apparaissent (Bekondi, 2008).

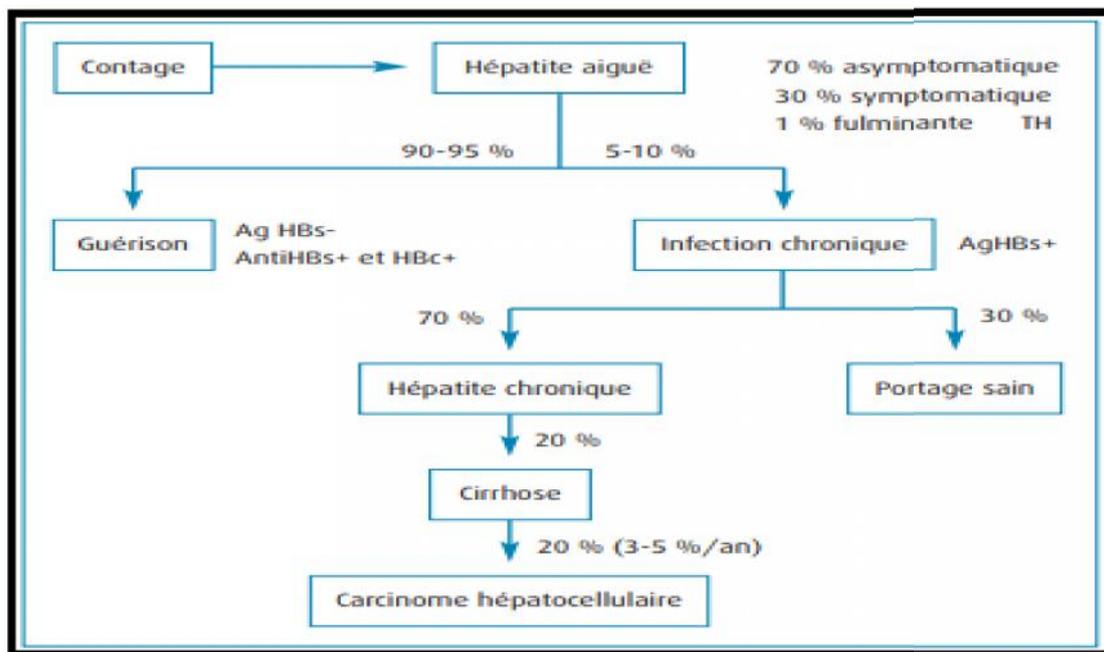


Figure 05 : Histoire naturelle de l'infection virale B (Stanislas Pol, 2006)

Chapitre 1 : Synthèse Bibliographique

6. Traitement

6.1 But de traitement

Le principal but du traitement de l'hépatite virale chronique B est l'inhibition de la réplication virale, permettant l'amélioration, voire la guérison des lésions histologiques, au mieux avant l'installation d'une cirrhose, stade irréversible. L'arrêt de la réplication virale est attesté par la négativation de l'ADN viral dans le sérum, accompagnée d'une séroconversion dans le système « e » ; la séroconversion dans le système « s » et la normalisation des transaminases et d'une amélioration histologique (Lok et al, 2000).

6.2 Traitement antiviral

Le traitement antiviral comprend deux catégories principales de médicaments, dont l'interféron alpha pégylé (PegIFN) et les analogues, nucléosidiques ou nucléotidiques (AN).

Le PegIFN apporte une suppression modérée de la réplication du virus mais de longue durée, persistant même après l'arrêt du traitement qui dure habituellement environ 48 semaines. Néanmoins, il est associé à de nombreux effets indésirables qui diminuent la tolérance des patients à ce traitement et par conséquent limitent son acceptabilité.

D'autre part, les AN inhibent plus fortement la réplication virale mais nécessitent un traitement de longue durée qui peut être arrêté seulement après l'élimination de l'AgHBs afin de diminuer le risque de rechute. Ce sont par contre des médicaments associés à moins d'effets secondaires et c'est la seule option thérapeutique disponible pour certains sous-groupes de patients (prévention d'une réactivation du VHB chez l'immunosupprimé, décompensation d'hépatopathie chronique, patients transplantés, hépatite B aiguë, exacerbation sévère d'hépatite B chronique).

Généralement, le traitement de choix proposé par les dernières recommandations de l'EASL est l'administration d'AN avec haute barrière à la résistance au long cours (entécavir ou ténofovir). La stratégie thérapeutique est mise en place par le spécialiste en prenant, néanmoins, en considération les caractéristiques du patient. (Gkouvatsos et al, 2017).

Chapitre 1 : Synthèse Bibliographique

7. Prévention

7.1 Vaccination

Un vaccin contre le VHB est disponible depuis 1982 et, depuis 1991, l'OMS a recommandé une vaccination universelle des nouveau-nés avec un antigène HBs recombinant produit dans la levure (*Saccharomyces cerevisiae*). La vaccination permet d'induire la sécrétion d'anticorps neutralisants, pouvant agglutiner les antigènes viraux de surface pour empêcher l'étape d'entrée du virus dans la cellule hôte. Il est admis que le système immunitaire, dès lors qu'il a été capable de produire des anticorps protecteurs contre le VHB, sera capable, par un mécanisme de mémoire immunitaire, d'induire une protection en cas de contamination (Ahodantin, 2017).

Ils sont administrés en injection intra-musculaire en schéma de 3 ou 4 doses (0-1-6 mois ou 0-1-2-12 mois) (Somar, 2014).

Les études chez des personnes immunisées durant l'enfance montre une bonne efficacité du vaccin avec 15 ans de recul, et 95% des personnes protégées de l'infection chronique (van der Sande et al. 2006).

7.2 Mesures préventives générales

Les modalités de transmission du VHB étant connues, la prévention repose sur des mesures générales visant à prévenir les maladies sexuellement transmises et les expositions au sang et aux produits biologiques. En milieu de soins, les conduites à tenir et le matériel à utiliser doivent être bien définis. Elles concernent le personnel mais aussi les patients porteurs de virus. Des mesures spécifiques consistent à exclure du don de sang, de tissus ou d'organes les sujets porteurs de l'Ag HBs et/ou de l'anticorps anti-HBc. Actuellement la recherche de l'ADN viral dans ces situations n'est pas faite. Les dons en lactarium doivent également être contrôlés et les dérivés du sang stables sont sécurisés.

Enfin, il faut également lutter pour un respect scrupuleux des règles d'hygiène non seulement en milieu médical mais également à domicile dans l'entourage d'un patient infecté (Bekondi, 2008).

7.3 Immunothérapie passive

Les immunoglobulines spécifiques anti-HBs (IgHB) provenant de donneurs immunisés contre le VHB sont utilisées pour l'immunisation passive après exposition au virus, notamment :

Chapitre 1 : Synthèse Bibliographique

- chez tout nouveau-né de mère positive pour l'AgHBs
- en cas de contamination accidentelle (piqûre, blessure) par du sang ou des produits sanguins positifs pour l'AgHBs chez un sujet non vacciné
- après transplantation hépatique chez un sujet porteur du virus afin de prévenir la réinfection du greffon en neutralisant les particules virales circulantes.

Ces IgHB ne confèrent qu'une protection transitoire et doivent être relayées par les anticorps induits par la vaccination

II. Immunopathogénèse de l'hépatite B

Le virus de l'hépatite B (VHB) est communément considéré comme un virus non cytopathique, c'est-à-dire n'altérant pas les fonctions métaboliques, biochimiques ou morphologiques des cellules infectées. Les dommages au foie qui sont observés à la suite de l'infection par le VHB sont en fait probablement la conséquence de la réponse immunitaire adaptative de l'hôte. La sévérité de la maladie hépatique varie selon les individus. Dans plus de 90 % des cas, les adultes infectés par le VHB développent une hépatite aiguë et sont capables de contrôler et d'éliminer le virus sans effets indésirables à long terme. En revanche, certains individus ne parviennent pas à éliminer le virus mais restent infectés de façon chronique. Ils présentent alors un risque accru de développer des maladies du foie sévères telles que la cirrhose ou le carcinome hépatocellulaire (Dupuy et al, 2016).

1. Réponse immunitaire innée

L'immunité anti-infectieuse non spécifique joue un rôle majeur dans les primo-infections. Elle assure la production d'interféron de type 1 (INF α / β) et l'activation des cellules dites Natural Killer (NK). Dans un foie normal, les cellules NK représentent le 1/3 des lymphocytes intra hépatiques. Ces cellules assurent d'une part le contrôle précoce de la réplication virale par la production de grandes quantités de cytokines antivirales et permettent d'autre part l'établissement de la réponse adaptative en dialoguant avec les cellules présentatrices d'antigènes. Pendant la phase d'incubation de l'hépatite B, une augmentation précoce des cellules NK circulantes est observée, leur présence précède de 2-4 semaines l'apparition des cellules TCD8+.

Chapitre 1 : Synthèse Bibliographique

Les cellules NK exercent leur fonction cytolytique grâce au système perforine /granzyme mais surtout par une autre voie faisant intervenir des couples récepteur/ ligand appartenant à la famille des récepteurs du TNF.

Les cellules NKT sont des lymphocytes T exprimant les marqueurs des cellules NK , ainsi qu'un récepteur T invariant capable de reconnaître des antigènes lipidiques présentés par une molécule non classique du CMH classe 1 exprimées par les cellules présentatrices d'antigène.

Les cellules NKT sont induites par :

- La reconnaissance directe des antigènes viraux de l'enveloppe virale.
- Les signaux de stress envoyés par les hépatocytes infectés ou par les cellules dendritiques du foie.
- Les cellules NKT produisent également des cytokines (INF) permettant le contrôle précoce de l'infection.

2. Réponse immunitaire adaptative

La réponse immunitaire adaptative fait intervenir un grand nombre de cellules immunitaires (cellules dendritiques, lymphocytes T, lymphocytes B). Les cellules dendritiques (CD) sont des cellules présentatrices d'antigène (CPA) qui font le lien entre les composantes innées et adaptatives de la réponse immunitaire. Les CD sont capables de stimuler les lymphocytes T naïfs, car elles sont les seules CPA à exprimer de forte densité de molécules de classe II du CMH et des molécules de co-stimulation.

D'autres CPA existent dans le foie, ce sont les cellules de Kupffer qui jouent un rôle majeur en coordonnant le recrutement des cellules T spécifiques du VHB par le biais des chimiokines. Les lymphocytes TCD4+ (LT auxiliaires) sont des cellules productrices de cytokines, orchestrent le bon développement de la réponse TCD8+ cytotoxique et la réponse anticorps. La production par les lymphocytes B des anticorps et notamment les anticorps anti-enveloppe (anti-HBs) va permettre la clairance virale. Il existe des différences entre les réponses adaptatives en cas d'infection résolutive et en cas d'infection chronique (Mallem, 2015).

2.1 Réponse immunitaire T au cours de l'infection aiguë

L'action coordonnée des réponses TCD4+ (sécrétion des cytokines de type Th1) et CD8+ est capitale pour la résolution de l'infection par le VHB.

Chapitre 1 : Synthèse Bibliographique

2.1.1 Lymphocytes TCD8+

Ces cellules jouent un rôle primordial dans la clairance de l'infection virale en entraînant une lyse des cellules présentant les peptides viraux (épitopes) associés aux molécules du CMH I. Ces dernières sont fortement présentes à la surface des hépatocytes, stimulées par les interférons (INF) qui sont les produits des médiateurs de l'immunité innée. Au cours de l'hépatite virale aiguë, il existe une réponse cellulaire cytotoxique vigoureuse, polyclonale et spécifique à toutes les protéines du VHB.

Une séquestration des TCD8+ dans le foie pendant la phase aiguë persiste au moins trois mois après la séroconversion HBs avec une concentration allant jusqu'à 20 fois celle du sang périphérique. À côté des réponses TCD8+ spécifiques du virus. On assiste au développement des lymphocytes T mémoires capable de réagir rapidement en cas de réinfection (Mallem, 2015).

2.1.2 Lymphocytes TCD4+

Ces cellules ont pour mission d'orchestrer l'expansion des autres cellules immunocompétentes par la sécrétion des facteurs solubles, il existe deux sous-populations de lymphocytes T auxiliaires en fonction des cytokines secrétées : les Th1 et les Th2. Les antigènes viraux sont présentés aux lymphocytes TCD4+ après avoir été phagocytés par les CPA, localisés à leur surface en association avec les molécules de classe 2 du CMH.

Des études ont montré une corrélation entre une forte réponse TCD4+ multi-spécifique dirigée contre les protéines virales et la résolution de l'hépatite B. Les lymphocytes de type Th1 produisent de l'IFN- γ de l'IL-2 et du TNF- α qui assurent le contrôle de la réplication virale, et contribuent à l'induction, l'expansion et au maintien des fonctions effectrices des lymphocytes T CD8+.

2.2 Réponse immunitaire B au cours de l'infection aiguë

Les LT auxiliaires sont responsables de l'activation de la réponse humorale. Les Th2 produisant de l'IL-4 et l'IL-10, contribuent à la différenciation des lymphocytes B, ceci aboutit à la commutation isotypique IgM vers IgG, IgA ou IgE. Le développement d'une réponse T auxiliaire puissante contre l'Ag HBc/Ag HBe est associé à la disparition des antigènes et l'apparition sérique des anticorps correspondants. Les Ac anti-HBe sont associés

Chapitre 1 : Synthèse Bibliographique

à une réduction de la multiplication virale. Les Ac anti- HBc confèrent une immunité protectrice (Mallem, 2015).

2.3 Réponse immunitaire au cours de l'infection chronique

Les mécanismes responsables du passage à la chronicité sont multifactoriels et ne sont pas encore entièrement décryptés. Il s'agit de :

2.3.1 Facteurs liés à l'hôte

Défauts immunitaires nombreux et proportionnels à la charge virale, les réponses T CD4+ et CD8+ sont diminuées de manière significative, souvent indétectables avec une réduction de la production de l'INF- . Perdant ainsi leurs fonctions antivirales. Il existe une corrélation inverse entre la charge virale et les réponses T, particulièrement chez les sujets Ag HBe (+). Il s'agit en fait d'un phénomène d'épuisement de réponse T face aux fortes charges virales. La réaction inflammatoire générée par les CD8+ spécifiques est inefficace.

On incrimine certains types de cellules T régulatrices (T reg) qui sont des lymphocytes T CD4+ dans l'inhibition, de la réponse T pro- inflammatoire, de la prolifération des lymphocytes T spécifique du VHB, et de la production de certaines cytokines. Les CD dans le foie ont une moindre capacité à activer une réponse T et à produire de l'IL-12.

2.3.2 Facteurs viraux affectant la réponse immunitaire

La présence du virus sous forme d'ADN circulaire superenroulé (cccDNA), serait impliquée dans le phénomène de persistance virale.

Le contact fréquent de la cellule T avec les antigènes viraux (Ag HBe et Ag HBs) serait responsable de l'épuisement des cellules T au cours de l'infection chronique. L'Ag HBe agit à la fois comme un immunogène et comme un tolérogène (tolérance T néonatale). La production de grandes quantités d'enveloppes virales vides est impliquée aussi dans la tolérance des cellules T spécifiques face au VHB (Mallem, 2015).

III. Diagnostic et recherche des antigènes de l'hépatite B

Le diagnostic de l'infection par le VHB est très important et, se réalise selon un algorithme qui devrait être appliquée dans tous les laboratoires. Un prélèvement sanguin suffit pour établir le diagnostic. La disponibilité des tests performants pour une grande variété de

Chapitre 1 : Synthèse Bibliographique

marqueurs sériques permet un diagnostic précis des différents stades de l'infection (Bekondi, 2008).

1. Diagnostic sérologique

Le diagnostic au laboratoire repose en pratique courante sur la mise en évidence dans les fluides biologiques des marqueurs du virus de l'hépatite B, principalement de l'antigène HBs pour la mise en place du traitement antiviral et le suivi de la réponse virologique au traitement (DAOU, 2018)

1.1 Culture

La multiplication *in vitro* du VHB, est possible mais reste réservée au domaine expérimental et a pour objectif de mettre en évidence un virus entier ou un de ses constituants (protéines virales, génome viral). Dans ce cours, nous développerons des méthodes d'isolement viral en culture cellulaire, de détection immunologique de protéines virales et de détection de génomes viraux (Bekondi, 2008)

1.2 Microscopie électronique

Les particules de Dane ainsi que les sphères et les filaments produits en excès peuvent être mis en évidence assez facilement dans le sérum par microscopie électronique mais cette technique qui nécessite de fortes concentrations de particules virales n'est pas utilisée en routine (Bekondi, 2008).

1.3 Détection des antigènes et anticorps

La détection des antigènes viraux et des anticorps spécifiques dans les fluides biologiques est fondée sur l'utilisation des tests immunoenzymatiques de type ELISA (Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay) et ELFA (Enzyme Linked fluorescent Assay). Outre les méthodes automatisables, il existe aussi des tests rapides (TDR) pour la détection de l'AgHBs à partir de sérum ou plasma (DAOU, 2018).

1.3.1 Ag HBs

Longtemps appelé « Antigène Australia », l'Ag HBs est le marqueur sérologique essentiel à tout diagnostic d'infection par le VHB, sa détection attestant d'une infection en cours par le VHB. Les tests actuellement commercialisés utilisent des anticorps monoclonaux reconnaissant l'épitope « a » du gène S, commun à la totalité des souches de VHB. L'Ag HBs

Chapitre 1 : Synthèse Bibliographique

apparaît précocement au cours d'une infection par le VHB. Il est décelable deux semaines environ avant l'apparition des anticorps anti-HBc IgM et reste décelable en moyenne quatre à six semaines. La disparition de l'Ag HBs signe l'évolution favorable de l'infection. A l'inverse, la persistance de l'Ag HBs (plus de 6 mois) définit l'évolution chronique de l'infection.

1.3.2 Anticorps anti-HBs

La présence d'anticorps anti-HBs signe :

L'arrêt de réplication virale, soit la guérison ou plutôt la « résolution » de l'infection, 2 semaines à 4 mois après la disparition de l'Ag HBs, ou bien une protection post-vaccinale (seul marqueur VHB présent dans ce cas). En résumé, la recherche des Ac anti-HBs n'est indiquée que pour contrôler une immunisation vaccinale ou préciser le statut sérologique d'un sujet Ag HBs négatif/Ac anti-HBc totaux positifs.

1.3.3 Ag HBc

L'Ag HBc ne peut être recherché par immuno-histochimie que sur une biopsie hépatique. Il n'est pas recherché en pratique courante. En phase de réplication virale intense, il est décelable au niveau du noyau des hépatocytes (contrairement à l'Ag HBs qui est lui, en position cytoplasmique), mais ne l'est plus à la phase post-séroconversion HBe (phase non répliquative).

1.3.4 Anticorps anti-HBc totaux et anti-HBc IgM

Les IgM anti-HBc sont des anticorps d'apparition très précoce (environ 2 semaines après l'Ag HBs). Ils persistent à titre élevé pendant toute la phase aigüe puis se négativent ; leur détectabilité peut durer plusieurs mois, elles sont donc souvent encore présentes alors que l'Ag HBs a disparu, dans le cas de l'hépatite résolutive. Lors de la découverte fortuite d'un Ag HBs, la recherche des IgM permet de distinguer une infection ancienne d'une infection aigüe ; toutefois, la sensibilité importante des réactifs permet aussi de les redétecter en cas de réactivation de VHB.

On ne recherche pas les IgG anti-HBc à proprement parler, mais les anticorps totaux, IgG+IgM. Les anticorps anti-HBc totaux apparaissent donc très rapidement après le contact viral, sont non protecteurs et persistent de très nombreuses années après guérison, voire « à

Chapitre 1 : Synthèse Bibliographique

vie » quand l'infection a été prolongée ou a entraîné une infection symptomatique, ce qui en fait un excellent marqueur épidémiologique du contact avec le VHB.

1.3.5 Ag HBe

L'Ag HBe peut être utilisé comme marqueur de réplication du VHB. Cependant il n'est pas directement associé au virion ; il ne constitue qu'un marqueur indirect de réplication dont la détection est corrélée à 80% avec la détection de l'ADN du VHB.

1.3.6 Anticorps anti-HBe

L'apparition de l'anti-HBe survient normalement 6 à 8 semaines après l'apparition de l'Ag HBs dans le cas d'une hépatite aiguë résolutive et marque la fin de la réplication active du virus : il s'agit du premier verrou immunologique de réplication virale et il pronostique donc une évolution chronique qui sera confirmée au 6^e mois.

La recherche des Ac anti-HBe permet d'observer la séroconversion « e » (confirmant la disparition de l'Ag HBe), l'un des objectifs du traitement antiviral (Biomnis, 2012).

1.4 Détection et quantification de l'ADN du VHB

L'ADN du VHB peut être détecté et éventuellement quantifié dans le sérum, soit par des techniques d'hybridation au moyen de sondes spécifiques, soit par amplification génique. Les techniques d'amplification par PCR (*Polymerase Chain Reaction*) du génome viral sont les plus sensibles et permettent également après séquençage de révéler des variants ou mutants. La quantification permet de suivre l'évolution de la charge virale. La recherche de l'ADN viral est utilisée pour :

- ❖ Le dépistage et la détection précoce de l'infection (1 semaine)
- ❖ Aider à l'interprétation d'une sérologie non informative : Anticorps anti-HBc isolés
- ❖ La recherche d'ADN en cas d'hépatite chronique Ag HBe (-)
- ❖ Une recherche de réactivation du VHB chez un immunodéprimé
- ❖ Evaluer l'efficacité d'un traitement
- ❖ Fournir un marqueur prédictif de réponse après traitement
- ❖ Faire la distinction entre porteurs sains d'AgHBs et porteurs chroniques asymptomatiques
- ❖ Inclure des patients dans des protocoles thérapeutiques (Bekondi, 2008).

Chapitre 1 : Synthèse Bibliographique

Tableau 1: Interprétation des marqueurs sérologiques du VHB (Bekondi, 2008).

Marqueurs sérologiques	Signification clinique
AgHBs	Infections aiguë et chronique
AgHBe	Marqueur de réplication virale Infection débutante et chronique
IgM anti-HBc	Infection récente Infection chronique (mauvais pronostic)
Ig totales anti-HBc	Témoin de contact avec le virus
Ac anti-HBe	Suivi de traitement Hépatite AgHBe (-)
Ac anti-HBs	Guérison Immunité (naturelle ou vaccinale) Protection (si titre > 10 UI/L)

2. Présentation des techniques de dépistage

2.1 Technique d'amplification par PCR

Cette technique fut imaginée par le scientifique américain Karry Bank Mullis et développée par le Dr H.A. Herlich avec la collaboration de la compagnie Cetus en 1985. La PCR ou Polymérase Chain Reaction conduit à l'amplification in-vitro de plusieurs millions de fois une séquence spécifique d'acide nucléique qui peut être minoritaire voir très rare. Elle exploite le processus de la réplication et fait appel, pour cela, sur la capacité de l'ADN polymérase à synthétiser le brin complémentaire d'un ADN servant de matrice. Pour initier le processus, des amorces (ou *primer*) s'hybrident de part et d'autre de la séquence à amplifier. Cette configuration permet à l'ADN polymérase de répliquer les 2 monobrans dans le sens 5' vers 3' et ainsi aboutir à la synthèse de nouveaux ADN doubles brins.

La PCR s'effectue sur 3 étapes :

2.1.1 Dénaturation thermique de l'ADN

À 95°C, les liaisons d'hydrogènes sont rompues et les 2 brins de l'ADN se séparent. L'ADN passe sous forme simple brin dans le milieu.

Chapitre 1 : Synthèse Bibliographique

2.1.2 Hybridation des amorces

Le milieu réactionnel contient 2 amorces, chacune complémentaire d'un des 2 brins. La température permettant la fixation des amorces sur les monobrans d'ADN est comprise entre 50°C et 65°C. Les amorces en larges excès, s'hybrident dès lors qu'elles rencontrent les séquences complémentaires.

2.1.3 Extension des amorces

Intervention de la taq polymérase (ADN polymérase) qui allonge les amorces en y incorporant les désoxyribonucléiques complémentaires de la séquence de la matrice auquel elle est hybridée. Cette étape s'effectue à une température de 72°C. (6)

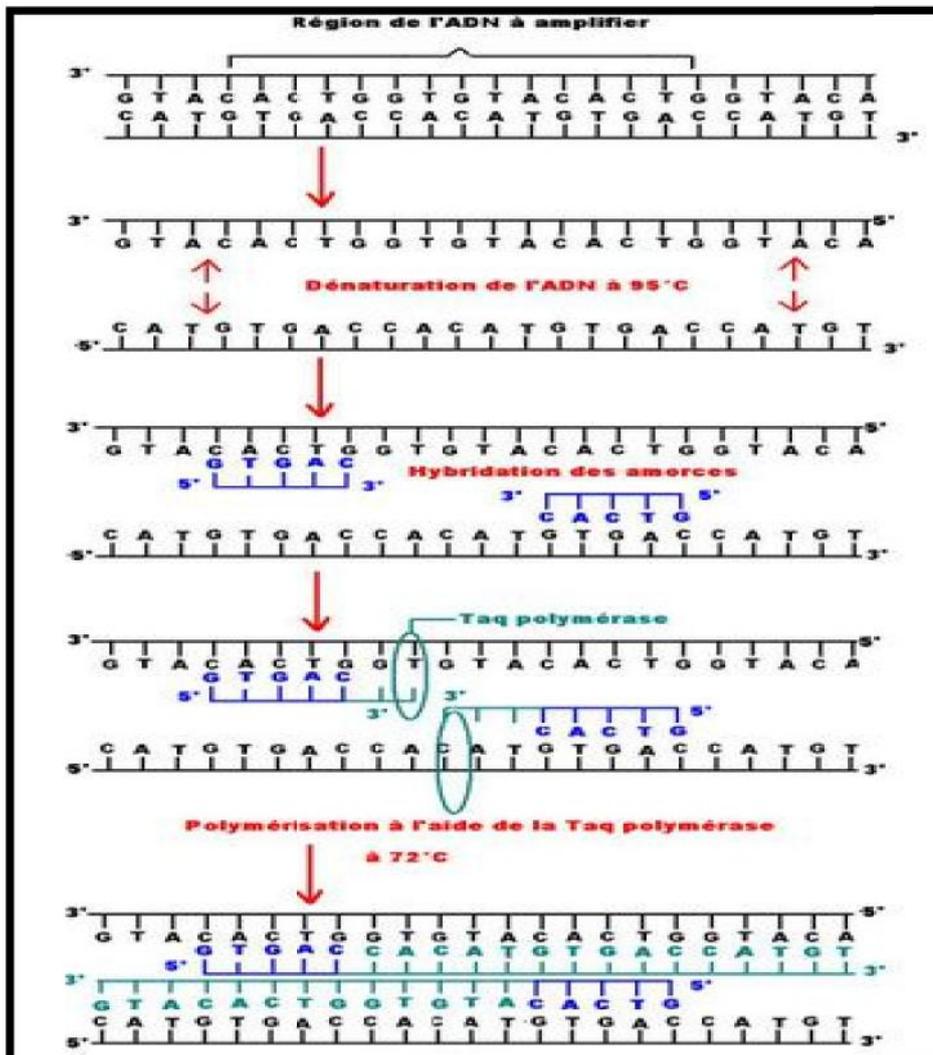


Figure 06: Etapes d'amplification par la technique PCR (6)

Chapitre 1 : Synthèse Bibliographique

A l'issue de la PCR, on obtient des fragments de même taille correspondant à la distance en base qui sépare les amorces.

La technique PCR se réalise par le biais d'un appareil programmable appelé un **thermocycleur** dans lequel sont placés les microtubes contenant le mélange réactionnel. Cet appareil permet d'exposer les tubes à des températures choisies et pour des durées déterminées par l'expérimentateur. La réaction PCR est extrêmement rapide, elle ne dure que quelques heures (2 à 3 heures pour une PCR de 30 cycles) (6).



Figure 07: Image d'un thermocycleur et microtubes (7)

2.2 Méthode immuno-enzymatique ELISA

La méthode immuno-enzymatique ELISA (de l'anglais Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) qui correspond donc à un dosage immuno-enzymatique sur support solide, est un examen courant de laboratoire. Cette méthode est principalement utilisée en immunologie pour détecter la présence d'un anticorps ou d'un antigène dans un échantillon. L'ELISA est une technique biochimique utilisant un ou deux anticorps. L'un de ceux-ci est spécifique de l'antigène, tandis que l'autre réagit avec les complexes antigène-anticorps et est couplé à une enzyme. Cet anticorps secondaire, responsable du nom de la technique, permet, en présence

Chapitre 1 : Synthèse Bibliographique

d'un substrat chromogène, l'émission d'un signal par la production d'un produit coloré détectable voir quantifiable. (8)

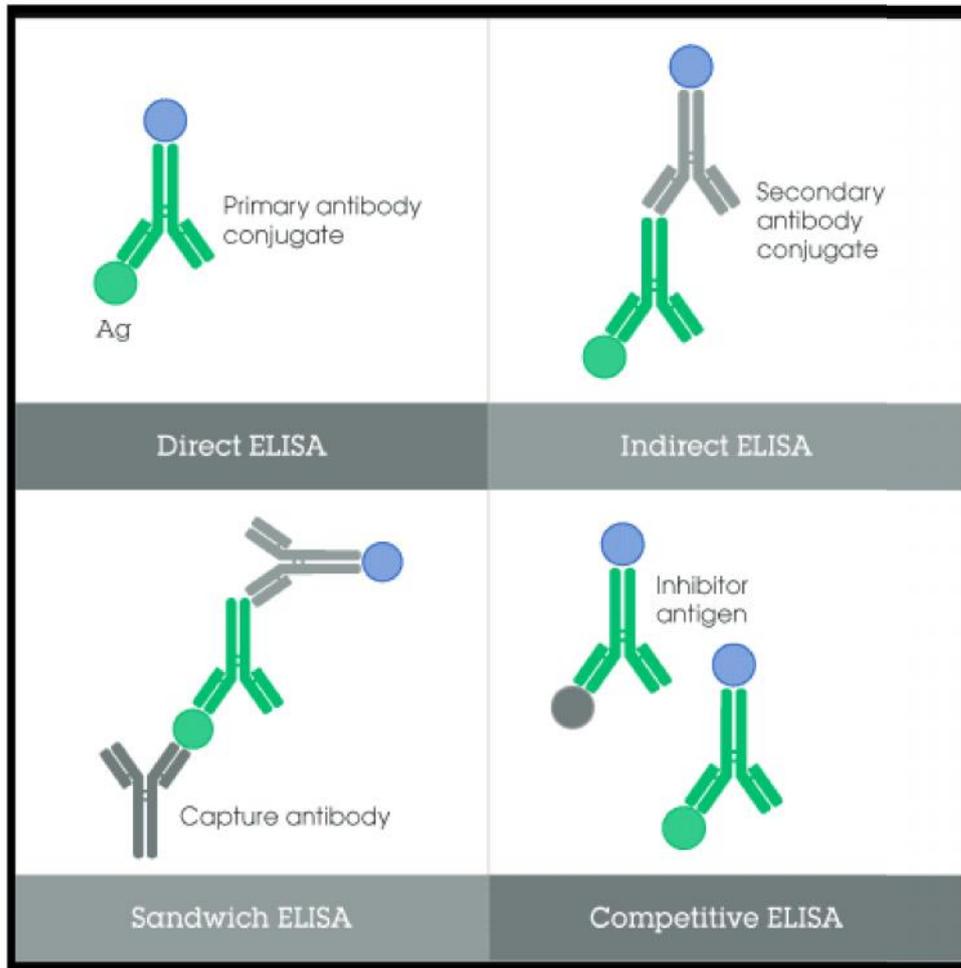


Figure 08: Différents types d'ELISA (9)

2.3 Tests de diagnostic rapide (TDR)

Les TDR basés sur le principe de l'immunochromatographie sont actuellement les plus utilisés car ils allient une simplicité d'exécution à la présence de contrôles positifs et négatifs inclus dans le test même. A une spécificité et à une sensibilité très satisfaisantes, s'ajoutent les facilités de transport, de conservation et d'utilisation. Un contrôle de qualité est intégré. Par ailleurs, le temps de formation du personnel est réduit à quelques heures. Les TDR existent déjà depuis trois décennies, en particulier pour la détection de l'infection à VIH/Sida et du paludisme. Puis, leur utilisation s'est étendue progressivement à d'autres maladies.

Chapitre 1 : Synthèse Bibliographique

Le principe de la détection rapide d'antigènes par immunochromatographie sur bandelette est identique. Mais, alors que les tests détectant des antigènes ne nécessitent aucun traitement préalable de l'échantillon, les tests recherchant des antigènes imposent une centrifugation préalable des tubes de sang. Mieux vaut travailler sur du sérum que sur du sang total (Aubry et al, 2018).



Figure 09: Image des tests de diagnostic rapides (TDR) (10)

2.3.1 Principe de la technique d'immunochromatographie

Les TDR développés pour le diagnostic des infections virales reposent essentiellement sur la technique d'immunochromatographie. La technique est basée sur la migration de l'antigène viral présent dans l'échantillon par capillarité sur un support solide de type nitrocellulose. Cet antigène est capturé par un anticorps spécifique immobilisé sur la membrane sous forme d'une fine bande. Le complexe antigène anticorps est révélé par un second anticorps (présent lui aussi au départ sur la membrane et migrant pendant la réaction) marqué à l'or colloïdal ou par des particules de latex colorées. La fixation de cet anticorps marqué sur le complexe antigène anticorps se traduit par l'apparition d'une bande colorée. Une bande contrôle basée sur la capture des anticorps marqués permet de valider le résultat (Segondy, 2015).

Chapitre 1 : Synthèse Bibliographique

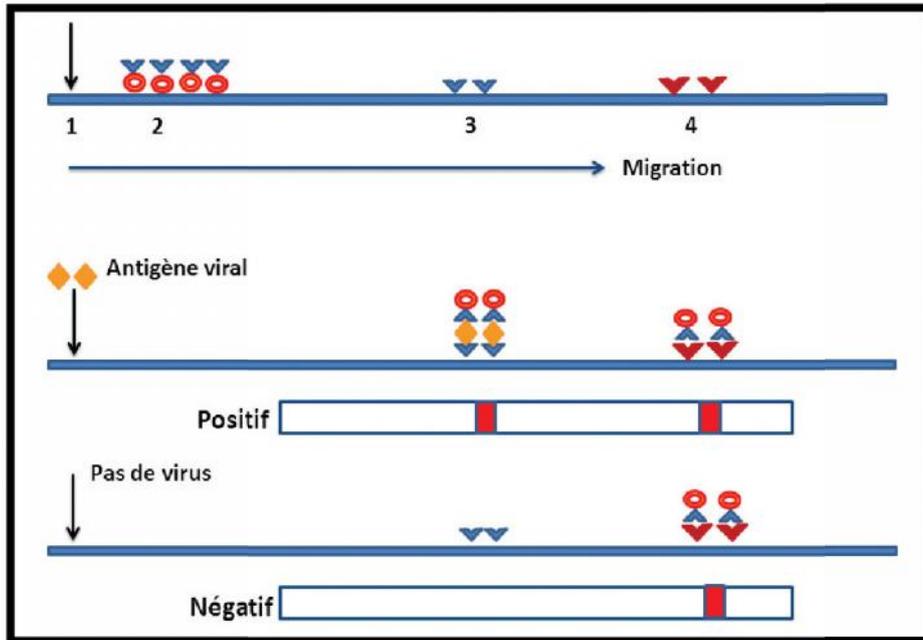


Figure 10: Principe de l'immunochromatographie (Segondy, 2015)

Chapitre 2 : Etude Pratique

I. Introduction

L'infection par le virus de l'hépatite B (VHB) constitue un problème de santé publique mondial majeur. Les personnes porteuses du VHB sont exposées aux risques de passage à la chronicité avec la survenue de complications telles que la cirrhose et le carcinome hépatocellulaire. Selon les estimations de l'Organisation mondiale de la santé (OMS), environ 2 milliards de personnes vivent avec le VHB dont plus de 240 millions sont porteurs d'une hépatite B chronique et entre 500 000 et 700 000 personnes meurent chaque année en raison de l'infection par le VHB.

1. Objectifs de l'étude

- ✓ Déterminer le nombre de cas d'hépatite B dans notre population d'étude dans une période de temps bien déterminée.
- ✓ Identifier les techniques de recherche de l'AgHBs.
- ✓ Décrire et préciser les aspects épidémiologiques et identifier les facteurs de risque et les éventuelles perspectives pour une bonne maîtrise de la prise en charge de cette infection.

2. Etude épidémiologique

Il s'agit d'une étude rétrospective et prospective de 235 cas d'hépatite virale B diagnostiqués au niveau du service de bactériologie de l'établissement public hospitalier Ibn Zohr sur une période allant de janvier 2013 à mai 2019.

Le recueil des données était réalisé à l'aide d'une fiche d'enquête du patient (voir en Annexe) remplie à partir des registres médicaux qui contiennent tous les données des patients.

Nous avons étudié les paramètres suivants :

Le nom, le sexe, l'âge, la date, le service et la technique utilisée afin d'établir des histogrammes à partir de ces données.

3. Analyse des données

Les données ont été saisies et analysées sur le Logiciel Excel 2007.

Chapitre 2 : Etude Pratique

4. Population d'étude

Notre étude est réalisée au niveau de la wilaya de Guelma : la population choisie est constitué de 235 patients (femmes et hommes) âgés de 11 à 90 ans.

5. Prélèvement et préparation des échantillons

Les prélèvements sanguins se font sur la veine du pli du coude, le sang prélevé est récupéré sur tubes sec, hépariné. Tous ces tubes sont étiquetés et répertoriés pour chaque patient. Après coagulation, le sang prélevé sur tubes secs est centrifugé à 3000 tours / min pendant 5 minutes à température ambiante. Le sérum récupéré est utilisé pour les tests sérologiques.

II. Matériel et méthodes

Le laboratoire de bactériologie dispose les appareils suivants pour la réalisation des tests sérologiques :

1. Centrifugeuse

Les centrifugeuses ont de multiples applications dans de nombreux domaines, seule leur utilisation en laboratoire de biologie médicale nous intéressera ici. Elles permettent la séparation du plasma ou du sérum sur lesquels seront pratiqués différents dosages.

1.1 Principe de fonctionnement

Une centrifugeuse est un appareil destiné à imprimer une force centrifuge, grâce à un mouvement de rotation, à un mélange généralement liquide/solide. La force centrifuge est une accélération qui s'exerce vers l'extérieur de l'axe de rotation et permet la sédimentation au fond du tube des particules les plus lourdes, le liquide plus léger surnageant. (09)



Figure 11: Centrifugeuse de laboratoire (prise personnelle 2019)

2. Automate Mini Vidas

Mini VIDAS®7 est un instrument de paillasse qui s'appuie sur la technologie éprouvée ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay) qui a fait de la famille VIDAS® un automate mondiale. C'est une version compacte du système VIDAS, intégrant l'ordinateur, le clavier et l'imprimante. Mini VIDAS comprend deux compartiments indépendants chacun acceptant 6 tests, permettant la détection de l'antigène de surface du virus de l'hépatite B dans le sérum ou le plasma humain.

Chapitre 2 : Etude Pratique



Figure 12: Automate Mini vidas (11)

2.1 Principe du test

Le principe du dosage associe la méthode immunoenzymatique sandwich en 2 étapes à une détection finale en fluorescence (ELFA). Ce dosage peut être effectué selon 2 protocoles : protocole long (90 minutes), protocole court (60 minutes).

Le cône à usage unique sert à la fois de phase solide et de système de pipetage. Les autres réactifs sont prêts à l'emploi et pré-répartis dans la cartouche. Toutes les étapes du test sont réalisées automatiquement par l'instrument.

Elles sont constituées d'une succession de cycles d'aspiration/refoulement du milieu réactionnel. Après une étape préliminaire de lavage, les antigènes de l'échantillon se lient simultanément aux anticorps monoclonaux fixés sur le cône et à l'anticorps conjugué à la biotine. Les composants non liés de l'échantillon sont éliminés par lavage. L'antigène capturé par la phase solide et complexé à l'anticorps biotinylé est mis en contact avec la streptavidine conjuguée à la phosphatase alcaline qui se lie à la biotine. Une nouvelle étape de lavage élimine les composants non fixés.

Lors de l'étape finale de révélation, le substrat (4-méthylombelliferyl phosphate) est aspiré puis refoulé par le cône ; l'enzyme du conjugué catalyse la réaction d'hydrolyse de ce substrat en un produit (4-méthylombellifère) dont la fluorescence émise est mesurée à 450nm. La valeur du signal de fluorescence est proportionnelle à la concentration de l'antigène présent dans l'échantillon.

Chapitre 2 : Etude Pratique

A la fin du test, les résultats sont analysés automatiquement par l'instrument et exprimés en indice par rapport à un standard, puis imprimée (Abrouki, 2013).

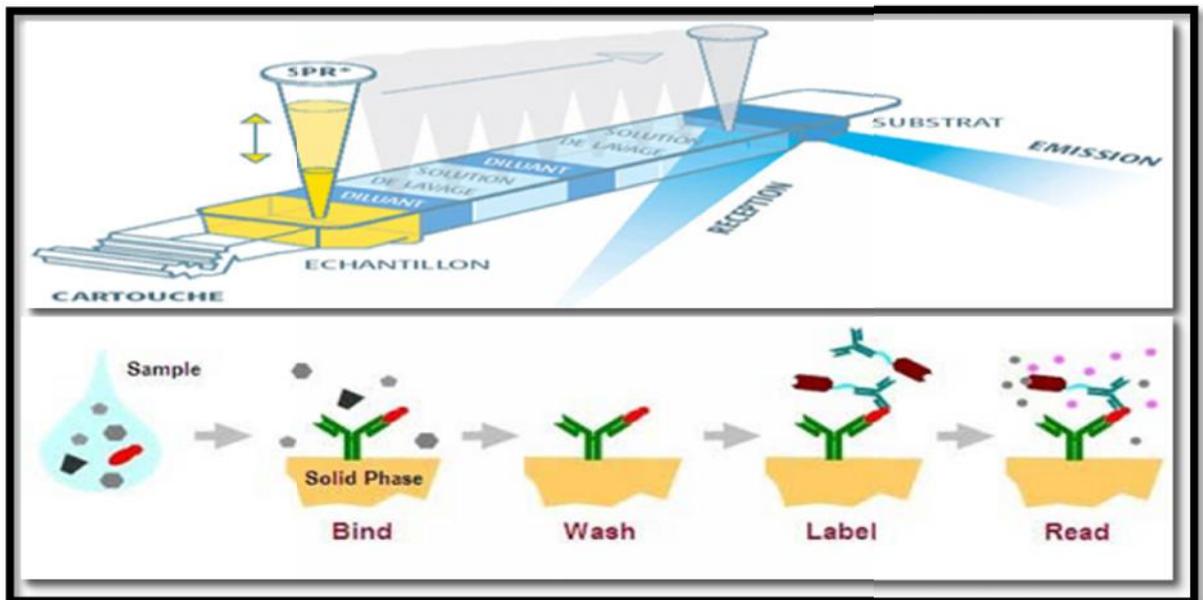


Figure 13: principe de dosage par ELFA (12)

2.2 Procédure

Pour l'automate VIDAS, on utilise des cartouches dans lesquelles on dépose 200ul du sérum et on le met dans le 1er puits, Ces cartouches sont formées par 10 puits contenant les différents réactifs nécessaires à l'analyse.

L'analyse se fait par plusieurs étapes et les résultats sont calculés automatiquement par l'automate par rapport à une courbe de calibration mémorisée, puis imprimée (Mabrouk, 2015).



Figure 14: Mise en place des cartouches et cônes dans l'automate (Mabrouk, 2015)



Figure 15: Cartouches et cônes (Mabrouk, 2015)

3. Test de diagnostic rapide (TDR) sur bandelette

Les tests de diagnostic rapide sont destinés à une utilisation professionnelle, pour aider au diagnostic de l'hépatite B. Ce test est un dosage immunochromatographique in vitro en une étape, conçu pour la détection qualitative simultanée de l'antigène HBsAg dans le sérum ou le plasma humain.

3.1 Procédure de test

Chapitre 2 : Etude Pratique

i. Ouverture de la bandelette

Retirez le dispositif de test du sachet en déchirant l'encoche. Tenez la bandelette à l'extrémité colorée. (Ne touchez pas l'extrémité de la flèche ; ne touchez pas la fenêtre de test, la partie centrale de la bandelette).

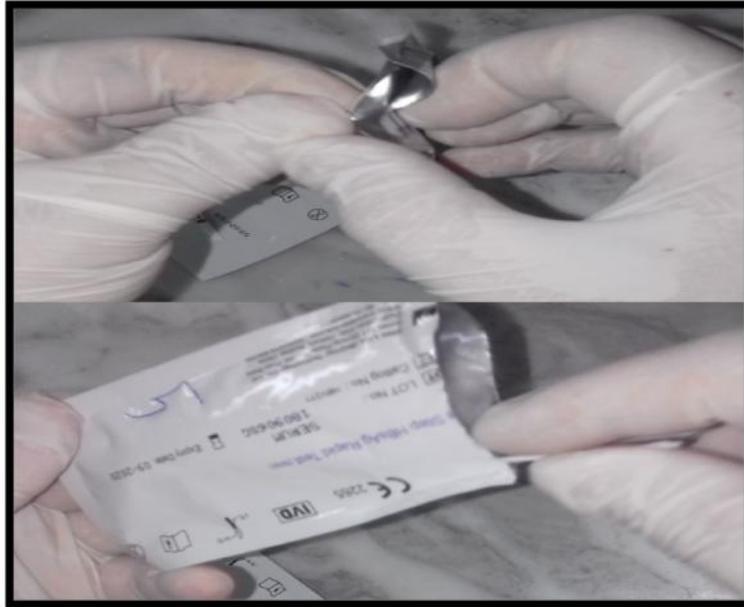


Figure 16: Ouverture de la bandelette (prise personnelle 2019)

ii. Placement de la bandelette dans le sérum

En tenant la bande verticalement, immergez la bandelette dans l'échantillon avec l'extrémité de la flèche dirigée vers l'échantillon.



Figure 17: placement de la bandelette dans le sérum (prise personnelle 2019)

Chapitre 2 : Etude Pratique

iii. L'attente de l'apparition des résultats

Retirer la bande après un minimum de 10 secondes. Appliquer la bande (côté MAX dirigé vers le haut) à plat sur une surface propre, sèche et non absorbante.

Lire le résultat en 10 à 20 minutes maximum. Puis jetez la bandelette et nettoyez le paillasse avec un désinfectant (tel que l'eau de javel ou l'éthanol à 70%).

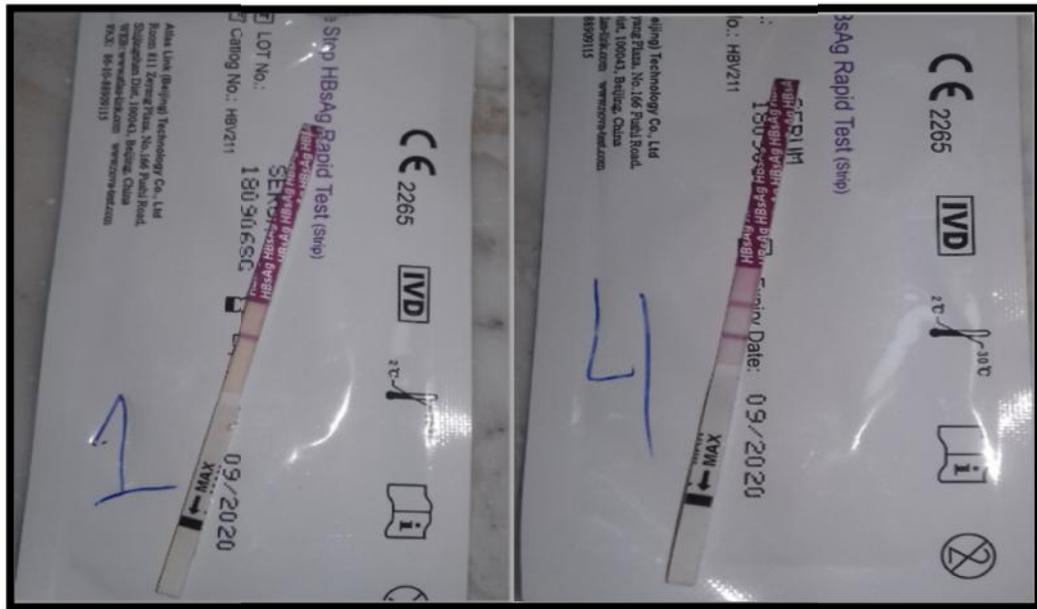


Figure 18: l'attente de l'apparition des résultats (prise personnelle 2019)

3.2 Interprétation des résultats

a) Négative

Une bande de couleur rose apparaît uniquement dans la région de contrôle (C), indiquant un résultat négatif pour les infections par VHB.

b) Positive

Une bande de couleur rose clair (C) et une bande de test détectable (T) apparaissent, indiquant un résultat positif pour les infections à VHB.

c) Invalide

Pas de bande visible dans la région de contrôle (C).

Chapitre 2 : Etude Pratique

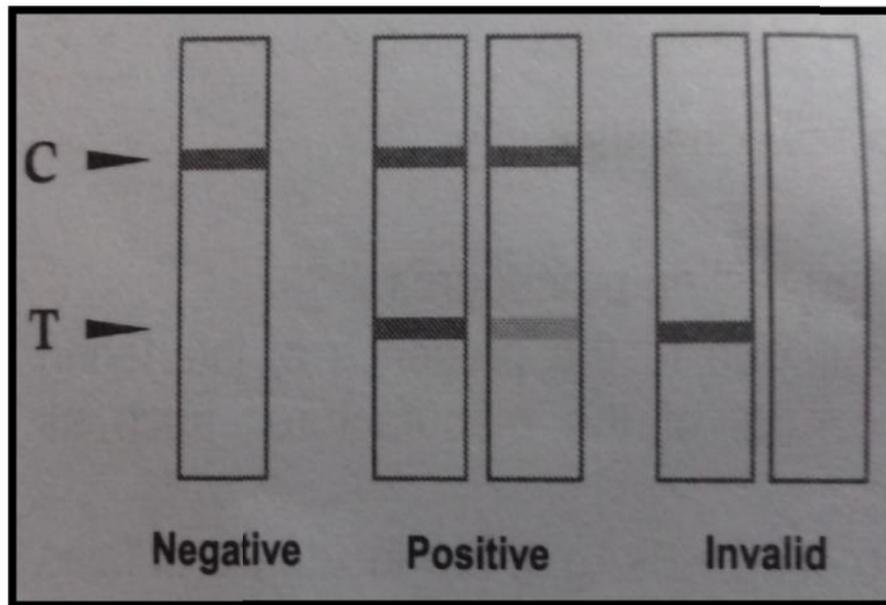


Figure 19: Interprétations des résultats (annexe)

III. Résultats

1. Répartition des malades atteints par l'hépatite B dans la wilaya de Guelma durant la période 2013-2019

L'hépatite B dans la wilaya concernée ont été évaluées en premier lieu à partir du calcul du nombre total de patients souffrant par la maladie. Nos résultats (Tableau 02, Figure 20, Figure 21) montrent que le nombre annuel total des cas pathologiques le plus élevé a été observé en 2017 avec 70 cas tandis que le nombre le plus bas a été enregistré en 2019 avec 12 cas.

Tableau 2: Répartition du nombre annuel des patients enregistré durant la période 2013-2019

Année	Effectif	Fréquence(%)
2013	36	15.32
2014	30	12.77
2015	23	9.79
2016	45	19.15
2017	70	29.79
2018	19	8.09
2019	12	5.11
Total	235	100

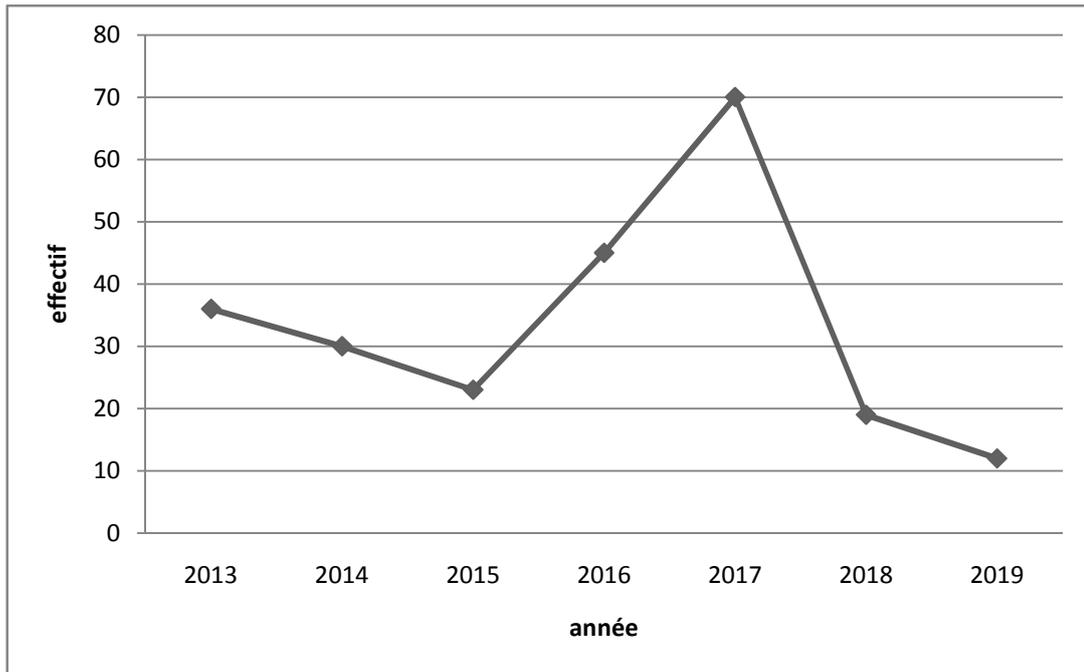


Figure 20: Répartition du nombre annuel des patients enregistré durant la période 2013-2019

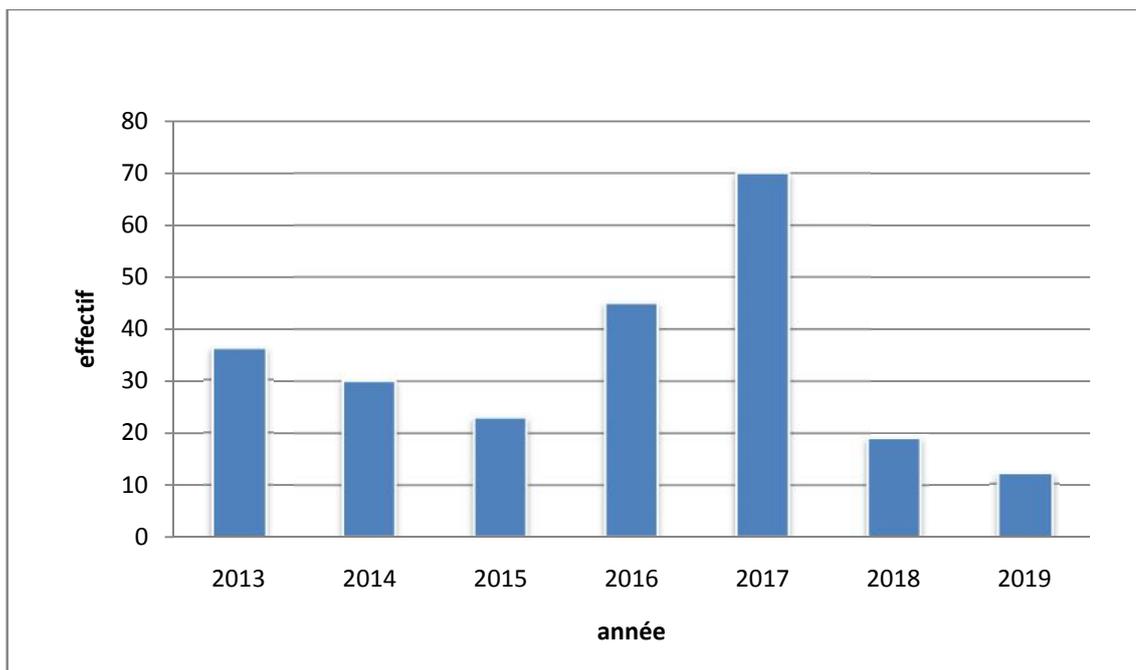


Figure 21: Répartition du nombre annuel des patients enregistré durant la période 2013-2019

2. Répartition du nombre annuel des patients enregistré en fonction de l'âge durant la période 2013-2019

L'analyse des caractéristiques de la population étudiée montre que la tranche des patients dont leurs âges est entre 40 à 60 ans sont les plus touchés avec 59 malades et en deuxième place celle des patients âgés entre 20 à 40 ans avec 48 malades (Tableau 03, Figure 22).

Tableau 3: Répartition du nombre annuel des patients enregistré en fonction de l'âge durant la période 2013-2019

Tranche d'âge	Effectif
[0-20]	3
[20-40]	48
[40-60]	59
[60-90]	24
Aucune information	101

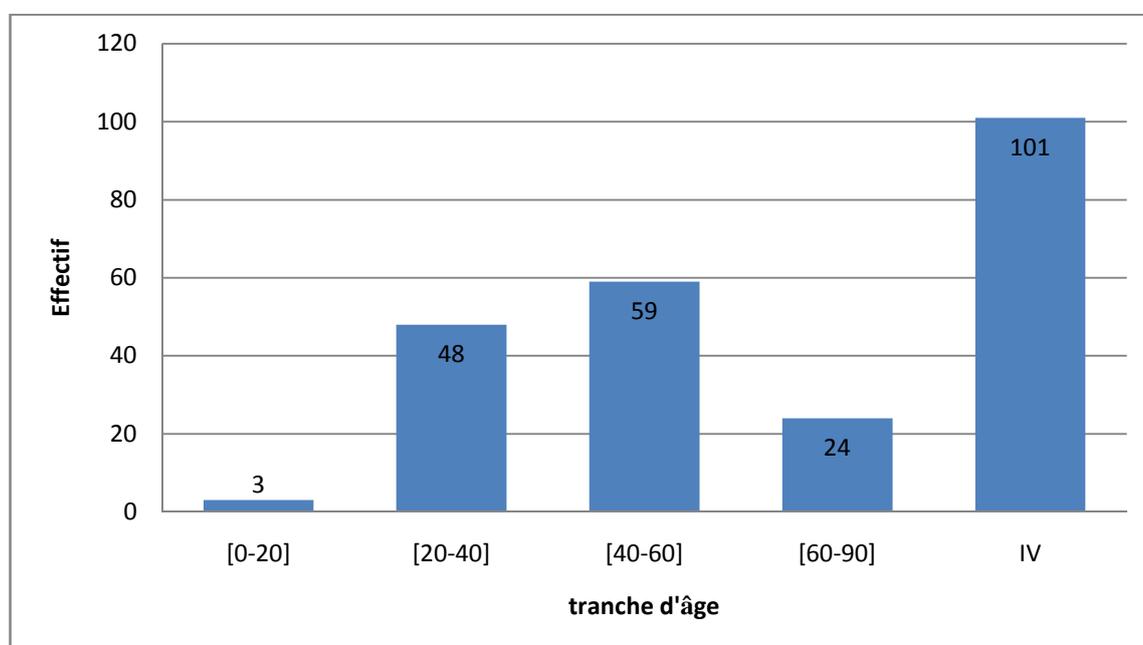


Figure 22: Répartition du nombre annuel des patients enregistré en fonction de l'âge durant la période 2013-2019

3. Répartition du nombre annuel total des patients enregistré en fonction du sexe durant la période 2013-2019

Notre population d'étude est constituée de 235 dont 149 de sexe masculin. En plus, on remarque que, le nombre le plus bas est chez le sexe féminin 86 par apport au sexe masculin (Tableau 04, Figure 23).

Tableau 4: Répartition du nombre annuel total des patients enregistré en fonction du sexe durant la période 2013-2019

Sexe	Sexe masculin	Sexe féminin
Effectif	149	86

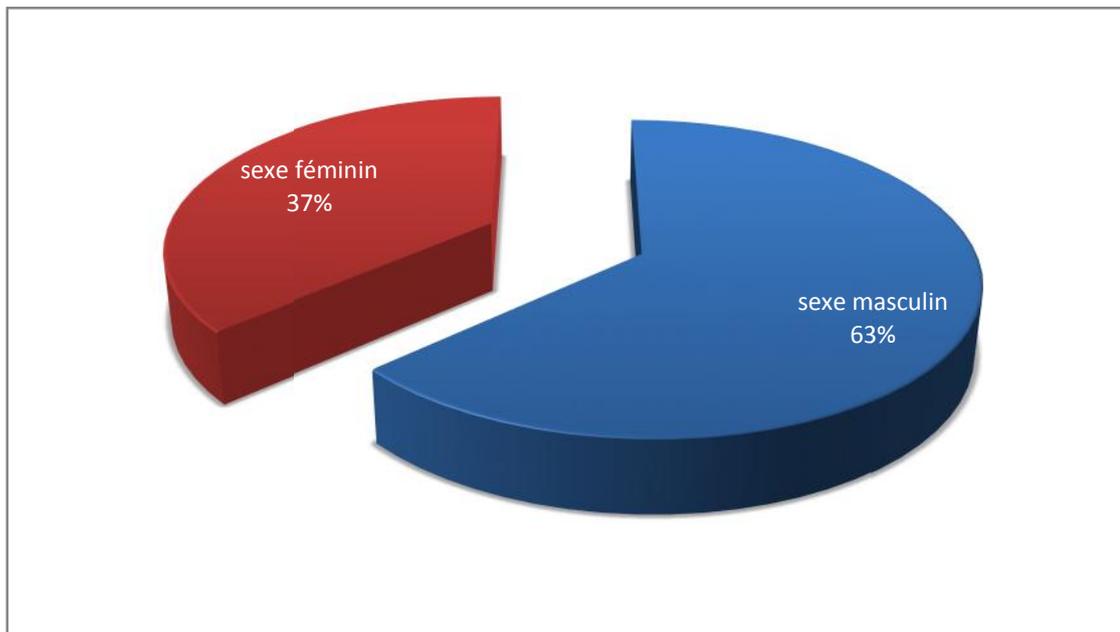


Figure 23: Répartition du nombre annuel total des patients enregistré en fonction du sexe durant la période 2013-2019

4. Répartition du nombre annuel des patients enregistré en fonction de la technique de diagnostic durant la période 2013-2019

La comparaison réalisée entre les techniques de diagnostic utilisées (Tableau 05, Figure 24) durant la période 2013-2019 révèle que les TDR se positionnent dans la première place avec 144 cas soit 61% suivie d'ELFA avec 91 cas soit 39%.

Tableau 5: Répartition du nombre annuel des patients enregistré en fonction de la technique de diagnostic durant la période 2013-2019

Technique	ELFA	Test de Diagnostic Rapide (TDR)
Effectif	91	144

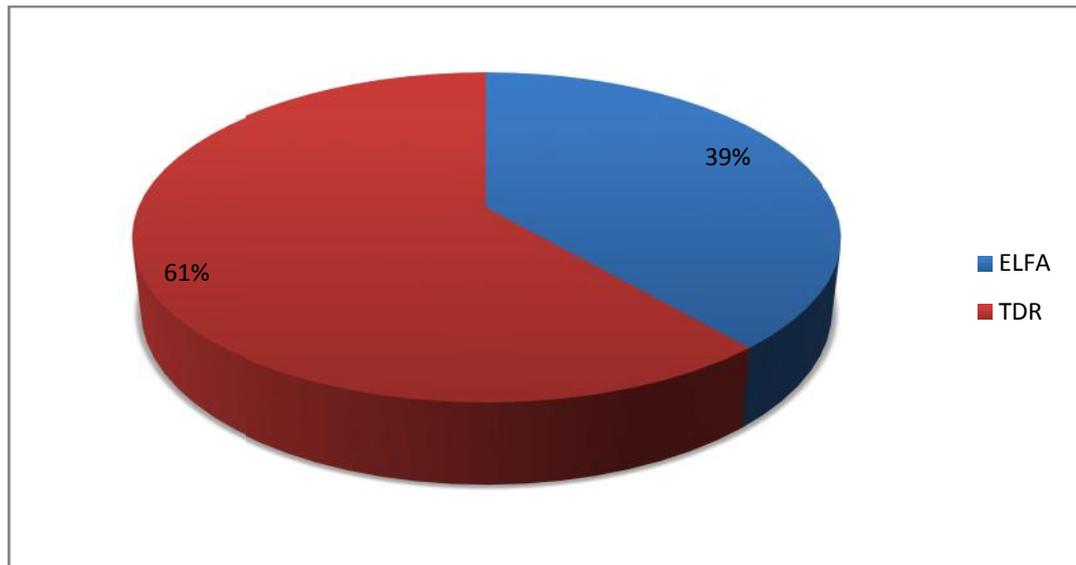


Figure 24: Répartition du nombre annuel des patients enregistré en fonction de la technique de diagnostic durant la période 2013-2019

5. Répartition des malades enregistrés en fonction des services durant la période 2013-2019

D'après les résultats obtenus on observe que le taux de patients externes est plus élevé que le taux de patients des autres services. En plus, on constate que le service d'infectiologie se place en première position avec 61 cas soit 25.96 % (Tableau 06, Figure 25).

Résultats

Tableau 6: Répartition des malades enregistrés en fonction des services durant la période 2013-2019

Service	Effectif	Fréquence (%)
Externe	153	65.11
Hémodialyse	15	6.38
Infectiologie	61	25.96
Oncologie	1	0.43
Urgence	1	0.43
Médecine de travail	4	1.70

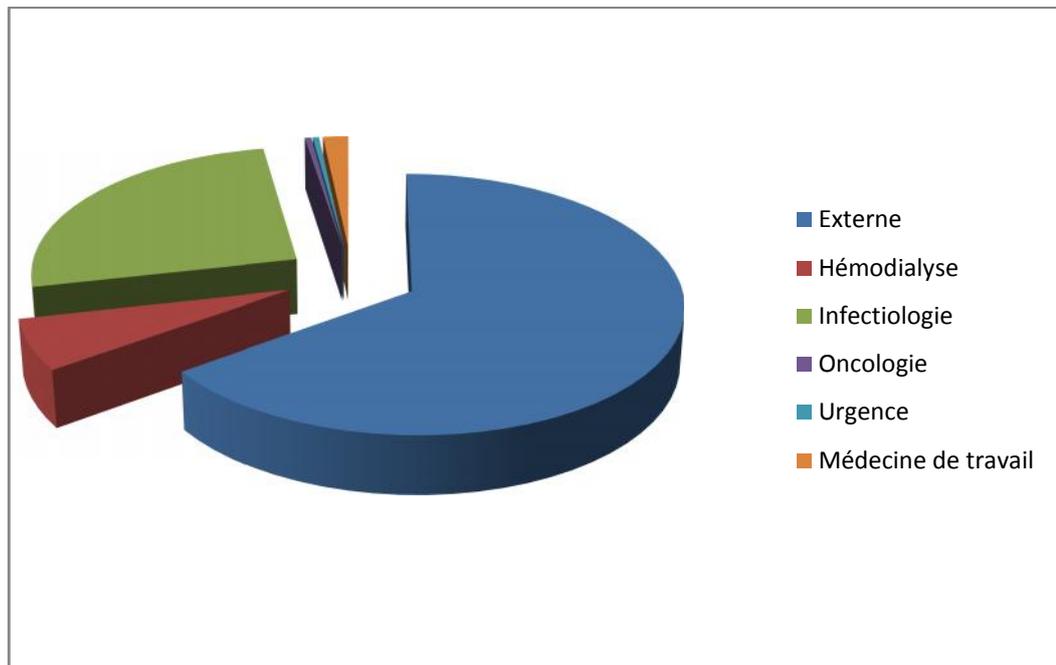


Figure 25: Répartition des malades enregistrés en fonction des services durant la période 2013-2019

IV. Disacussion

❖ Répartition du nombre annuel des patients durant la période de l'étude

L'étude menée dans la wilaya de Guelma dans le service de bactériologie dans l'établissement public hospitalier Ibn Zohr montre que l'hépatite B est estimée à 15.32%, 12.77%, 9.79%, 19.15%, 29.79%, 8.09%, 5.11% respectivement durant toute la période d'étude. Cette évolution interannuelle instable est caractérisée par une baisse observée durant les années 2015, 2018, 2019 et un pic survenant au cours de l'année 2017. Cette variabilité peut s'expliquer par la disponibilité des réactifs d'AgHBs au niveau du laboratoire.

❖ Répartition des patients selon l'âge

Nos résultats montrent que l'âge des patients est entre 40-60 ans parce que l'infection par l'hépatite B est en règle générale asymptomatique. Cela explique pourquoi la plupart des porteurs chroniques du VHB ne sont pas diagnostiqués. Ainsi, la maladie évolue le plus souvent silencieusement entre 10 à 20 ans et est découverte tardivement soit de manière fortuite soit au stade de cirrhose à l'occasion d'une complication. Ces résultats sont en accord avec de (Belaouira et Kiniouar, 2016) qui montrent que les sujets les touchés sont de l'âge entre 30 et 44 ans.

❖ Répartition des patients selon le sexe

Les sujets du sexe masculin sont plus touchés dans notre population 63% par rapport au sexe féminin 37%, il pourrait être dû à :

Les hormones sexuelles qui jouent un rôle important dans l'évolution de la maladie vers le carcinome hépatocellulaire (CHC). Le génome du virus contient une séquence particulière d'ADN qui interagit spécifiquement avec le récepteur aux hormones sexuelles mâles, les androgènes. Dans les cellules hépatiques, une cascade de réactions nocives pour le tissu hépatique est déclenchée lorsque le récepteur se lie à cette séquence (Ming-Heng et al, 2010).

Il existe aussi d'autres facteurs de risque chez les hommes tel que l'alcool, tabagisme qui peuvent augmenter la prévalence de l'hépatite B chez l'homme.

On peut expliquer cette prédominance masculine par des facteurs génétiques qui protègent les femmes contre l'infection par le virus de l'hépatite B (Diop et al, 2017).

Discussion

La cause de cette prédominance reste incertaine à ce jour mais aussi peut être aussi lié que les hommes sont plus exposés à l'infection par le virus que les femmes à cause des pratiques sociaux comme les tatouages, la toxicomanie, le rasage chez le coiffeur...ect.

❖ Répartition des patients selon la technique de diagnostic

Selon notre étude, on remarque que les tests de diagnostic rapide sont plus utilisés (61%) qu'ELFA (39%), car ce sont simples, fiables, rapides environ 15 à 20 minutes pour donner un résultat et peu coûteux.

Les TDRs sont destiné à une utilisation professionnelle comme aide au diagnostic de l'infection par le virus de l'hépatite B. Cet essai ne fournit qu'un résultat préliminaire de dépistage chez les personnes à risque ; il faut faire une confirmation par des techniques quantitatives plus spécifiques et plus sensibles : ELFA, ELISA et PCR pour évaluer plus avant le résultat final du test. Les TDRs VHB sont donc un outil complémentaire au dépistage biologique classique mais ne s'y substituent pas (Pawlotsky, 2008).

❖ Répartition des patients selon les services

Notre travail montre que le nombre des patients du service externe est le plus grand par rapport aux autres services (65.11%) car l'établissement publique hospitalier Ibn Zohr reçoit beaucoup de personnes chaque jour pour faire divers analyses gratuitement.

Puis le service d'infectiologie vient par 25.96% parce que ce service est spécialisé par ce type de maladies contagieuses.

Enfin, le service d'hémodialyse est observé par 6.38%, cela est expliqué par un risque d'infection virale prévisible chez les patients hémodialysés, compte tenu du déficit immunitaire induit par l'insuffisance rénale, de l'utilisation d'un même appareil pour plusieurs malades dont la désinfection totale est impossible, du risque secondaire lié au non-respect des règles d'hygiène et du risque de contamination évalué à 30 % de cause inconnue (Coulibaly, 2011).

Conclusion

Au terme de notre étude, nous pouvons conclure que l'infection par le virus de l'hépatite B constitue un problème de santé publique dans notre contexte. L'hépatite B représente un véritable problème de santé mondiale est considérée comme une maladie infectieuse extrêmement contagieuse.

Au cours de notre stage, le diagnostic sérologique est basé sur deux techniques : Les tests de diagnostic rapide c'est la technique la plus utiliser et la plus rapide et fiable, qui reposent essentiellement sur la technique d'immunochromatographie. Ainsi, la technique ELFA utilisée généralement pour la confirmation les résultats de la technique TDR.

Notre étude rétrospective a été réalisée au niveau du laboratoire de bactériologie médicale à l'hôpital Ibn Zohr dans la wilaya de Guelma. La population recensée dans la période des années (2013-2019) est de 235 cas d'hépatite virale B dont 86 femmes et 149 hommes. La tranche d'âge le plus affectée est celle des sujets situés entre 40 et 60 ans et le sexe masculin est plus touché que le sexe féminin.

Le dépistage de l'hépatite B doit être systématique chez la femme enceinte, les sujets à risque. Cette approche est d'importance pour la détermination des porteurs chroniques du VHB qui va permettre de détecter la maladie à un stade précoce, augmentant ainsi les chances de guérison ou de stabilisation, car plusieurs personnes séropositives ne présentent aucun symptôme pendant des années, alors que le virus continue à se multiplier et à induire des lésions dans le foie, jusqu'à un stade de complications parfois graves qui se manifesteront tardivement. Le dépistage va permettre d'éviter d'autres contaminations en incitant les individus identifiés porteurs de ce virus, de prendre des dispositions pour éviter la propagation du virus.

La prévention de l'hépatite B doit faire l'objet de plans d'action à travers une stratégie nationale et une mobilisation pluridisciplinaire et pluri-professionnelle pour organiser les filières de prise en charge. La stratégie devrait inclure un programme de ciblage des efforts de prévention du VHB, y compris l'hygiène de vie , la sensibilisation du public et la définition des exigences en matière de sécurité et de la promotion des normes de contrôle des infections dans les établissements de soins.

La prévention et la vaccination restent les méthodes les plus efficaces pour contrôler avec succès l'infection par le VHB.

Références Bibliographiques

Références Bibliographiques

Abrouki Fatima Ezzahra (2013). Les D dimères techniques de dosage. Thèse de doctorat, université Mohammed V Souissi, Rabat, P75.

Ahodantin James (2017). Protéine HBx du Virus de l'Hépatite B : Impacts sur la Polypléidisation Hépatique au Cours du Développement et de la Maladie du Foie. Thèse de doctorat de Virologie, Université Pierre et Marie Curie. Paris, P197.

Aubry Pierre, Gaüzère Bernard-Alex (2018). Tests de diagnostic rapide par immunochromatographie en zones tropicales. Diplôme de médecine tropicale des pays de l'océan indien, Université de Bordeaux, France, P9.

Belaouira Sandra, Kiniouar Nardjess (2016). Etude virologique et épidémiologique de l'hépatite B au niveau du CHU Constantine. Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master en Génétique Moléculaire, Université des Frères Mentouri Constantine, P38-39.

Bekondi Claudine (2008). Aspects cliniques et épidémiologiques des infections à virus de l'hépatite B en république centrafricaine. Thèse de doctorat, université Henri Poincare. Nancy1, P134.

Biomnis (2012). Biologie médicale spécialisée. Précis de biopathologie analyses médicales spécialisées, P3.

Chevaliez Stéphane (2018). New virological tools for screening, diagnosis and monitoring of hepatitis B and C in resource-limited settings, Journal of Hepatology 2018 vol. 69 ; 916-926.

Références Bibliographiques

Coulibaly Mohamed Lamine (2011). Etude la prévalence de l'infection VHB occulte chez les patients hémodialyses. Thèse de doctorat en pharmacie, université Mohammed V, Rabat, P28.

Douard- Lepère Charlotte (2009). Analyse du mécanisme d'entrée du Virus de l'Hépatite B : identification d'un nouveau déterminant de l'infectivité. Thèse de doctorat en biologie cellulaire, université de Rennes 1, P30.

Daou Alimata Dao (2018). Etude des connaissances, attitudes et pratiques du personnel de santé du CS Réf CIV du District de Bamako à propos de l'hépatite virale B. Diplôme d'Etat, Université des sciences des techniques et des technologies de Bamako, P69.

Dupuy-Faure Suzanne, Lucifora Julie (2016). Régulation de l'immunopathogénèse du virus de l'hépatite B par des cellules myéloïdes suppressives, cours Albert Thomas, université Claude Bernard (UCBL), vol. 32, P238.

Diop Moustapha, Diouf Assane, Seck Said Malaobé, Lo Gora, Ka Daye, Massaly Aminata, Dieye Alassane, Fall Ndeye Maguette, Cisse-Diallo Viviane Marie Pierre, Diallo-Mbaye Khardiata, Lakhe Ndèye Aissatou, Fortes-Déguénonvo Louise, Ndour Cheikh Tidiane, Soumaré Maserigne, Seydi Moussa (2017). Prévalence de l'antigène de surface du virus de l'hépatite B et facteurs associés chez des militaires sénégalais envoyés en mission au Darfour, Pan African Medical Journal, P4.

Gkouvatsos Konstantinos, Goossens Nicolas, Spahr Laurent, Negro Francesco (2017). Hépatite B : nouvelles recommandations de prise en charge. Revue médicale suisse, P1461.

Références Bibliographiques

Hellel Mohammed Abdelhafid (2015). Séroprévalence des anticorps anti-HBs dans la région de Tlemcen et facteurs influençant la réponse au vaccin anti HBV. Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du diplôme de docteur en pharmacie, université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen, P13.

Lok AS, Heathcote EJ, Hoofnagle JH (2000). Management of hepatitis B. Summary of a workshop, *Gastroenterology*, 120: 1828-1853.

Lauer U, Weiss L, Hofschneider PH, Kekule AS, 1992 .The hepatitis B virus pre-S/S(t) transactivator is generated by 3' truncations within a defined region of the S gene. *J Virol* 66(9) : 5284-5289.

Mason, W. S., U. S. Gill, et al. (2016). HBV DNA Integration and Clonal Hepatocyte Expansion in Chronic Hepatitis B Patients Considered Immune Tolerant. *Gastroenterology*, 151(5) : 986-998 e984.

Mallem Lynda (2015). Indications thérapeutiques aux différents stades évolutifs des porteurs chroniques du virus de l'hépatite B. Thèse de doctorat en sciences médicales, université 1 Ahmed Ben Bella, Oran, P01-179.

Mabrouk Hadjar (2015). Description des Analyses Médicales dans un laboratoire privé. Rapport de stage de fin d'études, université sidi Mohamed Ben Abdellah, Laboratoire d'analyses médicales Abou Inane, P18-19.

Ming-Heng Wu, Wen-Lung Ma, Cheng-Lung Hsu, Yuh-Ling Chen, Jing-Hsiung James Ou, Charlotte Kathryn Ryan, Yao-Ching Hung, Shuyuan Yeh, Chawnshang Chang (2010). Androgen Receptor Promotes Hepatitis B Virus-Induced Hepatocarcinogenesis Through Modulation of Hepatitis B Virus RNA Transcription, P30.

Références Bibliographiques

Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P (2001). Estimating the world cancer burden: Globocan 2000, *Int J Cancer* 94(2), 153-156.

Pontisso, P, M. C. Poon, et al. (1984). Detection of hepatitis B virus DNA in mononuclear blood cells, *Br Med J (Clin Res Ed)* 288(6430): 1563-1566.

Pawlotsky, J.M (2008). Les techniques virologiques de diagnostic et de suivi de l'hépatite B. *Gastroentérologie Clinique et Biologique* Volume 32, n° 1P2 ; P56-63.

Somar Kassab (2014). Variabilité du virus de l'Hépatite B. Thèse de doctorat en microbiologie, université de Bordeaux, P31.

Segondy Michel (2015). Les tests de diagnostic rapide des viroses respiratoires et des gastroentérites virales : intérêts et limites, *revue francophone des laboratoires*, N°474, P45.

Stanislas Pol (2006). Histoire naturelle de l'infection par le virus de l'hépatite B, *Presse Med*, 35: 308-16.

Van der Sande, P. Waight, M. Mendy, P. Rayco-Solon, P. Hutt, T. Fulford, C. Doherty, S. J. McConkey, D. Jeffries, A. J. Hall, and H. C. Whittle (2006). Long-Term Protection against Carriage of Hepatitis B Virus after Infant Vaccination, *The Journal of Infectious Diseases*, P1532.

Virologie (2017). Cours magistraux et Enseignements dirigés. Université Pierre et Marie Curie – Sorbonne Universités, P130-131.

Webographie

- (1) <http://www.centre-hepato-biliaire.org/maladies-foie.html>
- (2) <http://www.molecular-virology.uni-hd.de>
- (3) <https://devsante.org/articles/structure-et-replication-du-virus-de-l-hepatite-b>
- (4) http://www.doctissimo.fr/html/sante/encyclopedie/sa_448_hepatite_b.htm
- (5) <https://www.revmed.ch/RMS/2003/RMS-2422/22805>
- (6) <http://www.technobio.fr/article-17071980.html>
- (7) <http://droguet-sebastien.e-monsite.com/album-photos/materiel-en-test/thermocycleur-techgene-2.html>
- (8) <https://sms-bse-bgb.discip.ac-caen.fr/spip.php?article596>
- (9) <https://www.abcam.com/kits/types-of-elisa>
- (10) www.atlaslink-inc.com/infectious_diseases_new3.html
- (11) <https://www.drstore.in/biomerieux-mini-vidas-automated-immunoassay-analyzer.html>
- (12) <https://slideplayer.fr/slide/2750097/>

Annexes

République Algérienne Démocratique et Populaire

Etablissement publique hospitalier Ibn-Zohr-Guelma-

Laboratoire de Biochimie médicale

Fiche d'enquête

Nom de patient :.....

Âge :.....

Sexe :.....

Technique de diagnostic :.....

Service :.....

Annexes

Sommaire

Remerciement..... ii

Dédicacesiii

Liste d'abréviations v

Liste des figures vii

Liste des tableaux viii

Introduction 1

Chapitre 1 Synthèse Bibliographique..... 3

 I. Généralité sur l'hépatite B 3

1. Définition de l'hépatite B 3

2. Virus pathogène..... 3

 2.1 Structure du virus de l'hépatite B..... 4

 2.1.1 Particule virale complète 4

 2.1.2 Particules sous virales 4

 2.2 Génome de VHB 5

 2.3 Protéines virales 5

 2.3.1 Protéines d'enveloppes..... 5

 A. Protéine S 5

 B. Protéine M 6

 C. Protéine L 6

 D. Protéine X..... 6

 2.3.2 Polymérase virale 6

 2.3.3 Antigène HBc et Antigène HBe 6

 2.4 Propriétés physico-chimiques 7

 2.5 Multiplication du VHB dans l'hépatocyte infecté..... 7

3. Modes de transmission 9

Sommaire

3.1	Transmission parentérale.....	9
3.2	Transmission sexuelle	9
3.3	Transmission verticale ou materno-foetale	9
3.4	Transmission horizontale	10
4.	Symptômes	10
4.1	Signes cliniques.....	10
4.2	Signes para cliniques	10
5.	Histoire naturelle de l'infection virale B.....	11
5.1	Hépatite aigue.....	11
5.1.1	Hépatite aigue habituelle	11
5.1.2	Hépatite fulminante	11
5.2	Infection chronique par le VHB	12
5.2.1	Hépatite chronique	12
a.	Phase de tolérance immunitaire.....	12
b.	Phase d'activité immunitaire	12
c.	Phase de portage inactif.....	12
d.	Phase « Non répliquative ».....	13
e.	Phase AgHBs-negatif	13
5.2.2	Cirrhose	14
5.2.3	Carcinome hépatocellulaire.....	14
6.	Traitement	15
6.1	But de traitement	15
6.2	Traitement antiviral	15
7.	Prévention.....	16
7.1	Vaccination.....	16
7.2	Mesures préventives générales	16
7.3	Immunothérapie passive.....	16

Sommaire

II.	Immunopathogénèse de l'hépatite B	17
1.	Réponse immunitaire innée	17
2.	Réponse immunitaire adaptative	18
2.1	Réponse immunitaire T au cours de l'infection aigu	18
2.1.1	Lymphocytes TCD8+	19
2.1.2	Lymphocytes TCD4+	19
2.2	Réponse immunitaire B au cours de l'infection aigu	19
2.3	Réponse immunitaire au cours de l'infection chronique.....	20
2.3.1	Facteurs liés à l'hôte.....	20
2.3.2	Facteurs viraux affectant la réponse immunitaire	20
III.	Diagnostic et recherche des antigènes de l'hépatite B	20
1.	Diagnostic sérologique	21
1.1	Culture	21
1.2	Microscopie électronique	21
1.3	Détection des antigènes et anticorps	21
1.3.1	Ag HBs	21
1.3.2	Anticorps anti-HBs.....	22
1.3.3	Ag HBc.....	22
1.3.4	Anticorps anti-HBc totaux et anti-HBc IgM	22
1.3.5	Ag HBe.....	23
1.3.6	Anticorps anti-HBe	23
1.4	Détection et quantification de l'ADN du VHB	23
2.	Présentation des techniques de dépistage	24
2.1	Technique d'amplification par PCR.....	24
2.1.1	Dénaturation thermique de l'ADN	24
2.1.2	Hybridation des amorces	25
2.1.3	Extension des amorces	25

Sommaire

2.2	Méthode immuno-enzymatique ELISA	26
2.3	Tests de diagnostic rapide (TDR).....	27
2.3.1	Principe de la technique d'immunochromatographie.....	28
Chapitre 2 : Etude Pratique		31
I. Introduction		31
1.	Objectifs de l'étude	31
2.	Etude épidémiologique.....	31
3.	Analyse des données	31
4.	Population d'étude.....	32
5.	Prélèvement et préparation des échantillons	32
II. Matériel et méthodes		32
1.	Centrifugeuse	32
1.1	Principe de fonctionnement.....	32
2.	Automate Mini Vidas	33
2.1	Principe du test	34
2.2	Procédure.....	35
3.	Test de diagnostic rapide (TDR) sur bandelette.....	36
3.1	Procédure de test	36
3.2	Interprétation des résultats	38
III. Résultats.....		40
1.	Répartition des malades atteints par l'hépatite B dans la wilaya de Guelma durant la période 2013-2019.....	40
2.	Répartition du nombre annuel des patients enregistré en fonction de l'âge durant la période 2013-2019.....	42
3.	Répartition du nombre annuel total des patients enregistré en fonction du sexe durant la période 2013-2019.....	43
4.	Répartition du nombre annuel des patients enregistré en fonction de la technique de diagnostic durant la période 2013-2019	43

Sommaire

5. Répartition des malades enregistrés en fonction des services durant la période 2013-2019	
44	
IV. Discussion.....	46
Conclusion.....	48
Références Bibliographiques.....	49
Webographie	53
Résumé	54
Abstract	55
.....	56
Annexes	57