

MINISTRE DE L'EDUCATION NATIONALE

===== [ ] =====

REPUBLIQUE DU MALI

Un Peuple - Un But - Une Foi



UNIVERSITE DE BAMAKO

Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontostomatologie

Année Universitaire 2006 - 2007

Thèse N° /\_\_\_/ P

**TITRE :**

***Analyse des marqueurs de l'hépatite B  
chez les personnes co-infectées par le VIH  
et le VHB à Bamako.***

**THESE**

Présentée et soutenue publiquement le \_\_\_\_\_ 2007  
Devant la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontostomatologie  
De l'Université de Bamako

Par Mr **DIAWARA ATHANASE**

Pour obtenir le grade de  
**Docteur en Pharmacie (Diplôme d'Etat)**

**Jury:**

**Président :** Professeur Flabou Bougoudogo

**Membres :** Docteur Adama Diawara  
Professeur Sounkalo Dao

**Directeur de thèse :** Professeur Anatole Tounkara

**FACULTÉ DE MEDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTO-  
STOMATOLOGIE**

**ANNEE UNIVERSITAIRE 2006 - 2007**

**ADMINISTRATION**

DOYEN: **Anatole TOUNKARA** – PROFESSEUR

1<sup>ER</sup> ASSESSEUR : **Drissa DIALLO** -MAITRE DE CONFERENCES AGREGÉ

2<sup>ÈME</sup> ASSESSEUR : **Sékou SIDIBE** - MAITRE DE CONFERENCES

SECRETAIRE PRINCIPAL : **Yénimegué Albert DEMBELE** - PROFESSEUR

AGENT COMPTABLE : **Madame COULIBALY Fatoumata TALL** CONTROLEUR  
DES FINANCES

**LES PROFESSEURS HONORAIRES**

Mr Alou BA	Ophtalmologie
Mr Bocar SALL	Orthopédie Traumatologie - Secourisme
Mr Souleymane SANGARE	Pneumo-phtisiologie
Mr Yaya FOFANA	Hématologie
Mr Mamadou L. TRAORE	Chirurgie Générale
Mr Balla COULIBALY	Pédiatrie
Mr Mamadou DEMBELE	Chirurgie Générale
Mr Mamadou KOUMARE	Pharmacognosie
Mr Ali Nouhoum DIALLO	Médecine interne
Mr Aly GUINDO	Gastro-entérologie
Mr Mamadou.M KEITA	Pédiatrie
Mr Siné BAYO	Anatomie-Pathologie-Histoembryologie
Mr Sidi Yaya SIMAGA	Santé Publique, <b>Chef de D.E.R.</b>
Mr Abdoulaye Ag RHALY	Médecine Interne

**LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT PAR D.E.R. & PAR GRADE  
D.E.R. CHIRURGIE ET SPECIALITES CHIRURGICALES**

**1. PROFESSEURS**

Mr Abdel Karim KOUMARE	Chirurgie Générale
Mr Sambou SOUMARE	Chirurgie Générale
Mr Abdou Alassane TOURE	Orthopédie-Traumatologie, <b>Chef de D.E.R</b>
Mr Kalilou OUATTARA	Urologie
Mr Amadou DOLO	Gynéco - Obstétrique
Mr Alhousseini Ag MOHAMED	O.R.L
Mme Sy Assitan SOW	Gynéco – Obstétrique
Mr Salif DIAKITE	Gynéco – Obstétrique
Mr Abdoulaye DIALLO	Anesthésie – Réanimation

**2. MAITRES DE CONFERENCES**

Mr Abdoulaye DIALLO	Ophtalmologie
Mr Djibril SANGARE	Chirurgie Générale
Mr Abdel Kader TRAORE Dit DIOP	Chirurgie Générale
Mr Gangaly DIALLO	Chirurgie Viscérale

Mr Mamadou TRAORE	Gynéco - Obstétrique
Mr Filifing SISSOKO	Chirurgie Générale
Mr Sékou SIDIBE	Orthopédie – Traumatologie
Mr Abdoulaye DIALLO	Atologie
Mme DIALLO Fatimata S. DIABATE	Gynéco-Obstétrique
Mr Nouhoum ONGOIBA	Anatomie & Chirurgie Générale
Mr Sadio YENA	Chirurgie Générale et Thoracique
Mr Youssouf COULIBALY	Anesthésie – Réanimation

### **3. MAITRES ASSISTANTS**

Mr Issa DIARRA	Gynéco-Obstétrique
Mr Samba Karim TIMBO	O.R.L
Mme TOGOLA Fanta KONIPO	O.R.L
Mr Zimogo Zié SANOGO	Chirurgie Générale
Mme Diénéba DOUMBIA	Anesthésie/Réanimation
Mr Zanafon OUATTARA	Urologie
Mr Adama SANGARE	Orthopédie - Traumatologie
Mr Sanoussi BAMANI	Ophtalmologie
Mr Doulaye SACKO	Ophtalmologie
Mr Ibrahim ALWATA	Orthopédie – Traumatologie
Mr Lamine TRAORE	Ophtalmologie
Mr Mady MAKALO	Orthopédie – Traumatologie
Mr Aly TEMBELY	Urologie
Mr Niani MOUNKORO	Gynéco-Obstétrique
Mr Tiemoko D. COULIBALY	Odontologie
Mr Souleymane TOGORA	Odontologie
Mr Mohamed KEITA	O.R.L
Mr Bouraïma MAIGA	Gynéco-Obstétrique

## **D.E.R. DE SCIENCES FONDAMENTALES**

### **1. PROFESSEURS**

Mr Daouda DIALLO	Chimie Générale & Minérale	
Mr Amadou DIALLO	Biologie	
Mr Moussa HARAMA	Chimie Organique	
Mr Ogobara DOUMBO	Parasitologie – Mycologie	
Mr Yénimégué Albert DEMBELE	Chimie Organique	
Mr Anatole TOUNKARA	Immunologie	<b>Chef de D.E.R</b>
Mr Bakary M. CISSE	Biochimie	
Mr Abdourahmane S. MAIGA	Parasitologie	
Mr Adama DIARRA	Physiologie	
Mr Massa SANOGO	Chimie Analytique	
Mr Mamadou KONE	Physiologie	

### **2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES**

Mr Amadou TOURE	Histoembryologie
Mr Flabou Bougoudogo	Bactériologie-Virologie
Mr Amagana DOLO	Parasitologie
Mr Mahamadou CISSE	Biologie
Mr Sékou F.M. TRAORE	Entomologie Médicale
Mr Abdoulaye DABO	Malacologie Biologie Animale

Mr Ibrahim I. MAIGA Bactériologie - Virologie

### **3. MAITRES ASSISTANTS**

Mr Lassana DOUMBIA	Chimie Organique
Mr Mounirou BABY	Hématologie
Mahamadou A.THERA	Parasitologie
Mr Moussa Issa DIARRA	Biophysique
Mr Kaourou DOUCOURE	Biologie
Mr Bouréma KOURIBA	Immunologie
Mr Souleymane DIALLO	Bactériologie – Virologie
Mr Cheik Bougadari TRAORE	Anatomie-Pathologie

### **4-ASSISTANTS**

Mr Mangara M. BAGAYOGO	Entomologie Moléculaire Médicale
Mr Guimogo DOLO	Entomologie Moléculaire Médicale
Mr Abdoulaye TOURE	Entomologie Moléculaire Médicale
Mr Djibril SANGARE	Entomologie Moléculaire Médicale
Mr Mouctar DIALLO	Biologie Parasitologie
Mr Boubacar TRAORE	Immunologie
Mr Bokary Y. SACKO	Biochimie
Mr Mamadou BA	Biologie, Parasitologie Entomologie Médicale

## **D.E.R. DE MEDECINE ET SPECIALITES MEDICALES**

### **1. PROFESSEURS**

Mr Mamadou K. TOURE	Cardiologie
Mr Mahamane MAIGA	Néphrologie
Mr Baba KOUMARE	Psychiatrie, <b>Chef de DER</b>
Mr Moussa TRAORE	Neurologie
Mr Issa TRAORE	Radiologie
Mr Hamar A. TRAORE	Médecine Interne
Mr Dapa Aly DIALLO	Hématologie
Mr Moussa Y. MAIGA	Gastro-Entérologie-Hépatologie
Mr Somita KEITA	Dermato-Léprologie

### **2. MAITRES DE CONFERENCES**

Mr Bah KEITA	Pneumo-phtisiologie
Mr Boubacar DIALLO	Cardiologie
Mr Abdel Kader TRAORE	Médecine Interne
Mr Siaka SIDIBE	Radiologie
Mr Mamadou DEMBELE	Médecine Interne
Mr Mamady KANE	Radiologie
Mr Saharé FONGORO	Néphrologie
Mr Bakoroba COULIBALY	Psychiatrie
Mr Bou DIAKITE	Psychiatrie
Mr Bougouzié SANOGO	Gastro-Entérologie
Toumani SIDIBE	Pédiatrie
Mme SIDIBE Assa TRAORE	Endocrinologie

### **3. MAITRES ASSISTANTS**

Mme TRAORE Mariam SYLLA	Pédiatrie
Mr Adama D. KEITA	Radiologie

Mme Habibatou DIAWARA	Dermatologie
Mr Daouda K. MINTA	Maladies Infectieuses
Mr Kassoum SANOGO	Cardiologie
Mr Seydou DIAKITE	Cardiologie
Mr Arouna TOGORA	Psychiatrie
Mme DIARRA Assétou SOUCKO	Médecine Interne
Mr Boubacar TOGO	Pédiatrie
Mr Mahamadou TOURE	Radiologie
Mr Idrissa A. CISSE	Dermatologie
Mr Mamadou B. DIARRA	Cardiologie
Mr Anselme KONATE	Hépto-Gastro-Entérologie
Mr Moussa T. DIARRA	Hépto-Gastro-Entérologie
Mr Souleymane DIALLO	Pneumologie
Mr Souleymane COULIBALY	Psychologie
Mr Sounkalo DAO	Maladies Infectieuses
Mr Cheick Oumar GUINTO	Neurologie

## **D.E.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES**

### **1. PROFESSEUR**

Mr Boubacar Sidiki CISSE	Toxicologie
Mr Gaoussou KANOUTE	Chimie Analytique <b>Chef de D.E.R.</b>

### **2. MAITRES DE CONFERENCES**

Mr Ousmane DOUMBIA	Pharmacie Chimique
Mr Drissa DIALLO	Matières Médicales
Mr Boulkassoum HAIDARA	Législation
Mr Elimane MARIKO	Pharmacologie
Mr Alou KEITA	Galénique
Mr Benoît KOUMARE	Chimie Analytique

### **3. MAITRES ASSISTANTS**

Mme Rokia SANOGO	Pharmacognosie
Ababacar I. MAIGA	Toxicologie
Mr Yaya KANE	Galénique

### **5. ASSISTANTS**

Mr Saïbou MAIGA	Législation
Mr Ousmane KOITA	Parasitologie Moléculaire

## **D.E.R. DE SANTE PUBLIQUE**

### **1. PROFESSEURS**

Mr Sanoussi KONATE	Santé Publique
--------------------	----------------

### **2. MAITRE DE CONFERENCES**

Mr Moussa A. MAIGA	Santé Publique
--------------------	----------------

### **3. MAITRES ASSISTANTS**

Mr Bocar G. TOURE	Santé Publique
Mr Adama DIAWARA	Santé Publique

Mr Hamadoun SANGHO	Santé Publique
Mr Massambou SACKO	Santé Publique
Mr Alassane A. DICKO	Santé Publique
Mr Mamadou Soun calo TRAORE	Santé Publique

#### **4. ASSISTANTS**

Mr Sambou DIOP	Anthropologie Médicale
Mr Seydou DOUMBIA	Épidémiologie
Mr Oumar THIÉRO	Biostatistique
Mr Seydou DIARRA	Anthropologie Médicale

#### **CHARGES DE COURS & ENSEIGNANTS VACATAIRES**

Mr N'Golo DIARRA	Botanique
Mr Bouba DIARRA	Bactériologie
Mr Salikou SANOGO	Physique
Mr Boubacar KANTE	Galénique
Mr Souléymané GUINDO	Gestion
Mme DEMBELE Sira DIARRA	Mathématiques
Mr Modibo DIARRA	Nutrition
Mme MAIGA Fatoumata SOKONA	Hygiène du Milieu
Mr Mahamadou TRAORE	Génétique
Mr Yaya COULIBALY	Législation
Mr Lassine SIDIBE	Chimie Organique

#### **ENSEIGNANTS EN MISSION**

Pr. Doudou BA	Bromatologie
Pr. Babacar FAYE	Pharmacodynamie
Pr. Mounirou CISS	Hydrologie
Pr. Amadou Papa DIOP	Biochimie
Pr Lamine GAYE	Physiologie

*HOMMAGES AU JURY*

## ***A notre maître et président du jury***

### ***Professeur Flabou Bougoudogo***

Maître de conférence agrégé de bactériologie-virologie

Responsable de l'enseignement des cours de bactériologie-virologie à la Faculté de Médecine Pharmacie et Odonto-stomatologie.

Directeur général de l'INRSP

Cher maître, vous nous honorez en acceptant de présider le jury de ce travail.

Vos qualités d'homme de science, votre rigueur dans le travail, votre modestie et votre disponibilité pour vos collègues et vos élèves ont forcé l'admiration de tous.

## ***A notre maître et membre de jury***

### ***Docteur Adama Diawara***

Spécialiste en santé publique à la Faculté de Médecine Pharmacie et Odonto-stomatologie.

Chef de la division assurance qualité et économie du médicament à la direction de la pharmacie et du médicament.

Cher maître, nous vous remercions de l'honneur que vous nous faites en acceptant de siéger dans ce jury malgré vos multiples occupations.

Veillez accepter notre sincère remerciement cher maître.

## ***A notre maître et membre de jury***

### ***Professeur Sounkalo DAO***

Spécialiste des Maladies Infectieuses et tropicales

Maître- de conférence des maladies infectieuses

Chercheur au centre de recherche et de formation pour le VIH et la Tuberculose

Cher maître, ce travail est le témoignage de la confiance que vous avez placée en nous. Nous avons été séduits par votre simplicité, votre amour pour le travail bienfait et, votre souci constant de la bonne formation des futurs cadres. Nous vous serons toujours reconnaissant pour toutes les opportunités que vous avez offertes.

Par ailleurs, nous vous prions d'accepter nos excuses pour toutes les fois où nous n'avons pas été à la hauteur de mission.

Veuillez croire cher maître, en l'expression de notre profonde gratitude.

## ***A notre maître et directeur de thèse***

### ***Professeur Anatole Tounkara***

Doyen de la Faculté de Médecine Pharmacie et Odonto-stomatologie.

Professeur titulaire d'immunologie.

Chef du DER des sciences fondamentales à la FMPOS.

Directeur du centre de recherche et de formation pour le VIH et la Tuberculose (SEREFO).

Cher Maître, c'est un grand honneur que vous nous faites en acceptant de diriger ce travail malgré vos multiples occupations.

Votre rigueur scientifique, votre disponibilité et votre sollicitude nous ont toujours fascinés et font de vous un homme respecté et admiré par vos étudiants que nous sommes.

Recevez ici, cher maître, notre sincère remerciement et notre plus grand respect.

## SOMMAIRE :

I/ INTRODUCTION :.....	1
II/ OBJECTIFS :.....	3
III/ GENERALITES :.....	4
1- <u>Généralités sur l'hépatite B</u> :.....	4
A / <u>Le virus de l'hépatite B</u> :.....	4
A-1- <u>Multiplication structurale du VHB et spécificité antigénique</u> :.....	5
A-2- <u>Histoire naturelle de l'infection virale B</u> :.....	11
B / <u>Infection chronique par le virus de l'hépatite B</u> :.....	13
B-1-Définition :.....	13
B-2-Physiopathogenie de l'infection virale B :.....	13
B-3-Etude Biologique :.....	14
1-2- <u>Les marqueurs de l'infection du VHB et leur signification</u> :.....	20
1-3- <u>Epidémiologie de l'hépatite B</u> :.....	24
2- <u>le virus de l'immunodéficience acquise</u> :.....	27
3- <u>Diagnostics Biologiques de l'infection par le VIH</u> :.....	40
4- <u>Co-infection VHB/VIH</u> :.....	46
5- <u>Traitement du VIH et la co-infection VHB/VIH</u> :.....	53
IV- MATERIELS et METHODES :.....	68
V- RESULTATS :.....	100
VI- DISCUSSION :.....	109
VII- CONCLUSION :.....	113
VIII- RECOMMANDATIONS :.....	114
IX- REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :.....	115
X- ANNEXES :.....	123

## ABREVIATIONS

Ag : antigène

AgHBs : antigène de surface du VHB

AgHBc : antigène de core du VHB

AgHBe : antigène e du VHB

Ac : anticorps

Anti-HBs: anticorps anti- HBs= Ac HBs

Anti-HBe: anticorps anti- HBe= Ac HBe

Anti-HBc: anticorps anti- HBc= Ac HBc

ALAT: Alanine aminotransférase

ASAT: Aspartate aminotransférase

ARNm: Acide ribonucléique messenger

ADN : acide désoxyribonucléique

ARN : acide ribonucléique

CDC : Center Diseases Control

CHC : Carcinome hépatocellulaire

CNTS : Centre national de transfusion sanguine

DER : Département d'étude des recherches

EDM-III : 3<sup>ème</sup> enquête démographique et de santé du Mali

ELISA : Enzyme Linked Immunosorbant Assay

ELIFA: Enzyme Linked Fluorescent Assay

Env : enveloppe

Gag: groupe antigène

Gp: glucoprotéine

Ig : Immunoglobuline

IgM : Immunoglobuline M

IgG : Immunoglobuline G

Kd : Kilodalton

MST : maladies sexuellement transmissibles

Tp : Taux de prothrombine

OMS :Organisation mondiale de la santé

ONUSIDA : Organisation des nations unies pour le syndrome d'immunodéficience acquise

P : Protéine

PCR : polymérase chaîne réaction

Pol : polymérase

SIDA : syndrome d'immunodéficience acquise

VHB : virus de l'hépatite B

VHC : virus de hépatite C

VIH : virus de l'immunodéficience humaine

## *I-INTRODUCTION*

L'infection par le virus de l'hépatite B (VHB) est un problème crucial dans les régions de forte endémicité, en Afrique au sud du Sahara. L'hépatite B est une maladie très contagieuse. Le sérum du sujet infecté peut renfermer jusqu'à  $10^{10}$  virions infectieux par  $\text{mm}^3$  qui se multiplient dans les hépatocytes. De ce fait le risque à la chronicité, le passage à la cirrhose hépatique et au cancer du foie font de cette infection une pathologie grave. Au Mali, cette maladie a fait l'objet de nombreuses études (110, 59,61) et ces études ont montré qu'elle était prévalente. En effet chez les donneurs de sang au CNTS de Bamako, la prévalence est estimée de 14,9 à 16,1 % (92).

L'OMS estime que dans le monde plus de 2 milliards de personnes sont infectées par le VHB, y compris 400 millions de porteurs chroniques dont environ 60 millions en Afrique et 1,1 millions de décès par an et l'on enregistre plus de 4 millions de nouveaux cas d'hépatite aiguës (99).

Le sida est causé par le virus de l'immunodéficience humaine et selon le rapport de L'ONUSIDA/OMS du 21 novembre 2006, il y a 39,5 millions de personnes qui vivent avec le VIH dans le monde, 4,3 millions de nouveaux cas d'infection et 2,9 millions de décès dus au sida au cours de l'année 2006. L'Afrique subsaharienne compte à elle seule 24,7 millions de personnes vivant avec le VIH, 2,8 millions de nouveaux cas d'infection et 2,1 millions de décès dus au sida pendant l'année 2006 (83).

Au Mali, la prévalence globale rapportée par la 3<sup>ème</sup> enquête démographique de santé par (EDSMIII) de décembre 2001 est de 1,7%. Les femmes sont plus touchées avec une prévalence globale de 2% contre 1,3% chez les hommes (78). Le virus de l'hépatite B et celui du VIH sont transmis principalement par voie sexuelle et les co-infections sont fréquentes particulièrement dans les régions où ces 2 virus sont prévalents. La co-infection VHB est observée chez environ 10% de malades infectés par le VIH (102) et de plus 70-90% de malades infectés par le VIH ont des marqueurs d'exposition antérieure au VHB (anticorps anti-HBc et ou anti-HBs) (93). L'infection concomitante par ces agents mérite d'être évaluée. A ce jour aucune étude n'a été réalisée à notre connaissance au Mali sur l'analyse des marqueurs biologiques chez les porteurs qui ont les deux virus. Les sujets porteurs du VHB ont-ils une hépatite active plus souvent lorsqu'ils sont co-infectés par le VIH que les personnes non co-infectées ?

L'analyse des marqueurs de hépatite B chez les personnes co-infectées par le VIH et le VHB à Bamako, pourrait aider à trouver une réponse à cette question.

C'est pourquoi nous avons entrepris cette étude chez les donneurs de sang au Centre National de Transfusion Sanguine (CNTS) et au service des maladies infectieuses du centre hospitalo-universitaire de Point-G (CHU Point-G).

## *II-OBJECTIFS*

## **1-Objectif général :**

- Evaluer le risque d'une atteinte hépatique lors de la co-infection VIH /VHB.

## **2-Objectifs spécifiques :**

- Déterminer la fréquence des malades porteurs des deux virus
- Analyser les marqueurs hépatiques sérologiques qui sont : les antigènes AgHBs et AgHBe puis les anticorps anti-HBs, anti-HBe, anti-HBc lors de la co-infection VHB/VIH.
- Comparer le risque de portage de ces marqueurs chez les sujets porteurs et non porteurs des deux virus.

### *III-GENERALITES*

## 1- Généralités sur l'hépatite B :

L'histoire des hépatites a été colorée par la jaunisse, mais la plupart des hépatites sont an-ictériques. Ce camouflage entraînant un retard de diagnostic, voire une absence, et même une extension de la contamination. La jaunisse épidémique est décrite dans le talmud Hippocrate cinq siècles avant J.C, qui avait décrit en attribuant la responsabilité de cette manifestation cutanée et muqueuse au foie (45). Un siècle et demi après J.C, GALIEN distinguait les jaunisses liées à des obstructions biliaires et les jaunisses purement hépatiques. C'est en 1963 que fut découvert le virus de hépatite B (VHB) ; en 1970 la recherche systématique de l'antigène HBs lors des dons du sang ; en 1974 vaccin contre hépatites ;1988 dosage obligatoire des transaminases et recherche systématique de l'anticorps anti-HBc lors des dons de sang.

Les avancées subséquentes dans les domaines de la virologie et de la sérologie ont permis une compréhension de plus en plus approfondie du VHB, l'infection à VHB et de ses manifestations cliniques (99).

### A. Le virus de l'hépatite B (VHB)

**Définition :** Une hépatite infectieuse de type B est une inflammation du foie causée par un virus à ADN double brin de 42 nm. En microscopie électronique, on distingue 3 formes de virus et toutes ces 3 formes expriment l'antigène de surface (Ag HBs). Le virus présente à la surface l'Ag HBs tandis que sa nucléocapside exprime l'Ag du noyau (AgHBc). Les anticorps contre l'Ag HBs (Anti-HBs) sont des anticorps protecteurs. Un autre antigène important du VHB, l'Ag HBe, est décelable dans le sérum au moment le plus actif de la réplication virale, il sert ainsi de marqueur d'infectivité relative (cf thèse Oumar Guindo p4). L'inflammation du foie peut être causée soit par des substances toxiques, soit par des virus. Dès que les virus sont présents dans le sang, puis atteignent le foie, ils pénètrent dans les hépatocytes et s'y multiplient. Le système qui assure les défenses de l'organisme s'attaque alors aux virus en détruisant les cellules infectées. C'est la cause de l'inflammation du foie. Le VHB correspond à la particule de DANE décrite en 1970(100). Le comité international de la nomenclature situe ce virus dans la famille des HEPADNAVIRUS

et genre ORTHOEDNAVIRUS. Auquel appartiennent non seulement le VHB humain mais également les virus de l'hépatite de la marmotte, de l'écureuil fouisseur, du canard de PEKIN et du héron.

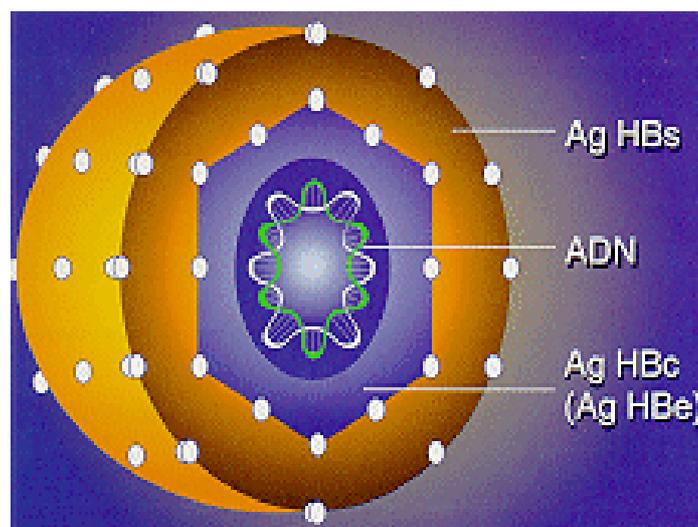
L'hépatite B constitue aujourd'hui une préoccupation de grande envergure. Le virus peut provoquer une infection asymptomatique, une hépatite aiguë clinique, une hépatite fulminante ou une infection persistante appelée état de portage chronique ; pour le dernier cas, le virus est à l'origine de plus de 80% des cas de cancers primitifs du foie.

### **A-1 Multiplication structurale du VHB et spécificité antigénique :**

#### **▪ Structure du VHB**

Elle est cubique, mesure 22 à 25 nm de diamètre. Cette capside contient l'acide désoxyribonucléique (ADN). L'ADN circulaire et bicaténaire, mais seulement sur 50 à 80% de sa longueur. Il comporte une chaîne longue de 3200 nucléotides et une chaîne courte dont la longueur varie de 2700 à 2800 nucléotides. Le clonage et séquençage de l'ADN ont permis d'identifier la présence de région codante les antigènes de surface (les gènes S et pré S) à la protéine de la nucléocapside (HBs et gène C) à l'ADN polymérase (100).

- de petites particules sphériques : 16 à 25 nm
- de petites formes filamenteuses ou tubules de longueur variable et dont le diamètre est égale à 22.



**fig 1 : structure du virus de l'hépatite B , selon Jean-Pierre Villeneuve,M.D.**

In <http://www.hepnet.com/hepbfr/gag.html> /article/ réseau d'information sur l'hépatite b.

### **1-1- L'enveloppe virale : AgHBs**

L'enveloppe virale possède la spécificité antigénique HBs. Elle est mise en évidence dans le sérum et le cytoplasme des hépatocytes du sujet atteint de l'hépatite B.

L'enveloppe virale, d'une épaisseur de 7nm, entoure la nucléocapside du virion. Dans le sérum du sujet à AgHBs positif, elle se trouve en état libre sous forme de particule sphérique de 20 à 22 nm de diamètre associée à des particules tubulaires ou filamenteuses de diamètre et de longueur variables. Son poids moléculaire est compris entre 2,4 et 3,5.10 Dalton. Elle est hétérogène, le déterminant « a » est commun à tous les sous types. Les déterminants « d » et « y » exclusifs sont associés à « a » pour définir les types classiques adw, adr, ayw et ayr (49). Récemment une nouvelle spécificité antigénique « q » a été décrite à l'intérieur de la catégorie ad ainsi que le déterminant « i » au sein de ay (78).

L'AgHBs, témoin de la réplication virale est vaccinant. C'est une lipoprotéine contenant une fraction hydrocarbonée et dépourvue d'acide nucléique. Détectable dans le sérum trois mois après l'infection, il induit la formation d'anticorps (anticorps anti-HBs) protecteurs, sérologiquement détectables après la disparition de l'AgHBs, c'est-à-dire six mois après le contagé.

### **1-2- Nucléocapside virale :**

#### **❖ La capsidie :**

La capsidie est une particule de 28,3 nm de diamètre formée de 180 capsomères. L'AgHBc est un des antigènes de la nucléocapsidie. Il est présent dans le noyau des hépatocytes infectées et à un degré moindre dans le cytoplasme mais jamais à l'état libre dans le sérum. Par contre les anticorps anti-HBc induits sont détectables sérologiquement 1 à 2 semaines après la disparition de l'AgHBc (60).

#### **❖ ADN virale et ADN polymérase :**

L'ADN est bicaténaire, circulaire avec un poids moléculaire de 1,6 à 2106 dalton et sa longueur est de 0,78 µm avec 3600 nucléotides (69). L'activité de l'ADN

polymérase a été décrite dans le sérum à AgHBs+. Il a été démontré par la suite que cette enzyme se trouvait dans le nucléocapside (49). Cet ADN génomique, est l'un des plus petits génomes viraux humains avec environ 3200 paires de bases. Le brin d'ADN le plus court est appelé brin positif et possède 4 phases de lecture ouverte partiellement.

Ce sont les gènes S, C, X, et P.

Le gène S code pour l'AgHBs

Le gène C code pour L'AgHBc

Le gène X code pour la protéine X qui possède une fonction transactivatrice sur des promoteurs du VHB.

Le gène P code pour L'ADN polymérase.

#### ❖ **Système antigène (AgHBe) / anticorps anti-HBe (anti-HBe) :**

Décrit en 1972 par Magnis, l'antigène HBe n'est présent que chez les sujets possédant l'antigène HBs. Son poids moléculaire est 300000 dalton et est constitué d'un seul polypeptide.

L'AgHBe est précipité par les anticorps anti-HBe. Ces derniers apparaissent dans le sérum des malades dès que l'AgHBe n'est plus détectable.

L'AgHBe est un constituant de la nucléocapside. La spécificité HBe est portée par les polypeptides constitutifs de L'AgHBe (5).

### **1-3 Multiplication du VHB**

#### **1-3-1 Supports de la multiplication virale**

L'homme est le seul hôte naturel. L'infection du chimpanzé et d'autres primates en captivité a été attribuée principalement à la fréquentation de l'homme. Cependant, on a également observé la circulation, chez ces animaux, de variants particuliers du VHB. Ceux-ci suscitent d'intéressantes questions sur l'origine du VHB, mais cette infection des primates ne joue actuellement pas de rôle dans l'épidémiologie humaine (35).

Les cellules permissives sont les hépatocytes, bien que de l'ADN viral ait été trouvé en faible quantité dans des sites extra hépatiques, monocytes, lymphocytes B, lymphocytes T CD4+ et CD8+. Cela étant, la multiplication in vitro du VHB, que l'on

peut obtenir en cultures primaires d'hépatocytes, ou dans certaines lignées continues de cellules conservant les propriétés des cellules hépatiques, apparaît fort limitée par comparaison à ce qu'on observe in vivo chez l'homme.

### **1-3-2 Cycle de multiplication du virus**

Après l'entrée dans l'hépatocyte, la forme circulaire ouverte et partiellement bicaténaire de l'ADN viral se trouve, sous l'action de l'ADN polymérase virale incluse dans la particule virale, transformée en forme bicaténaire circularisée sous tension : c'est le cccDNA, pour *covalently closed circular DNA*, appelé aussi *supercoiled DNA*, pour ADN surenroulé ou torsadé (35).

Cet ADN surenroulé est une sorte de mini chromosome détecté dans le noyau où il sert de matrice pour la transcription d'ARN viraux de différentes tailles : le plus long de ces transcrits, qui contient toute l'information génétique du virus, est un "progénome", tandis que des transcrits plus courts sont les ARN messagers correspondant aux 4 gènes du virus et sont bientôt traduits en protéines virales. Ultérieurement, le progénome ARN est encapsidé par l'antigène HBc avec l'ADN polymérase qui, fonctionnant comme RT, douée également d'une action ARNase H, fabriqué, à partir de ce progénome d'ARN, le génome d'ADN définitif et digère le progénome.

Cette opération est très particulière aux hepadnavirus et à un virus des plantes : le virus de la mosaïque du chou-fleur. Elle n'est pas identique à la rétro transcription du VIH car, si l'on observe parfois de l'ADN viral intégré dans l'ADN cellulaire, cette intégration n'est pas indispensable, ni à la réplication du VHB en phase active, ni à son pouvoir cancérigène. D'autre part, le VHB, contrairement au VIH, ne code pas d'intégrase. Cependant, il y a une homologie de séquence entre VIH et VHB, dont la polymérase partage le site catalytique caractérisé par la séquence YMDD (35).

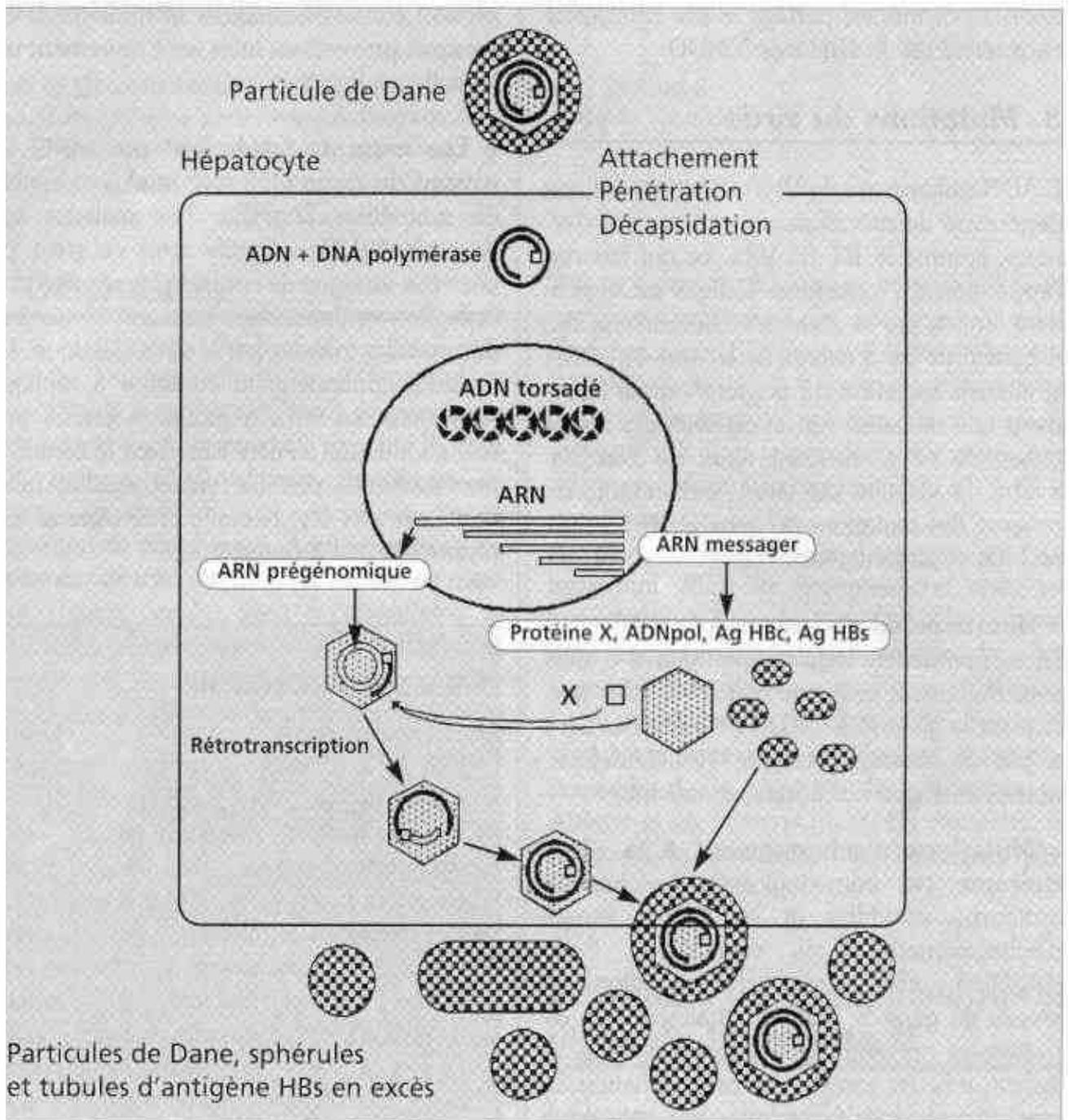


fig 2: Cycle de multiplication du VHB dans l'hépatocyte

In [http:// www.documentation.ledmed.org](http://www.documentation.ledmed.org)

## **A-2 HISTIORE NATURELLE DE L'INFECTION VIRALE B :**

Après une hépatite aiguë, l'ictère dans environ 10% des cas sa guérison est de règle à l'exception des hépatites fulminantes (un pour cent des cas) ou chroniques. La fréquence des hépatites chroniques liée au virus B varie considérablement selon les pays : par exemple l'antigène de surface du virus (AgHBs) a été détectée dans le sérum de seulement 3% de malades australiens atteints d'hépatite chronique active alors qu'il est identifié chez 50 à 60% des malades dans les pays d'Asie (Corée, Chine du Sud) et dans le bassin du méditerranée (Italie du Sud, Grèce, Afrique du Nord) (77).

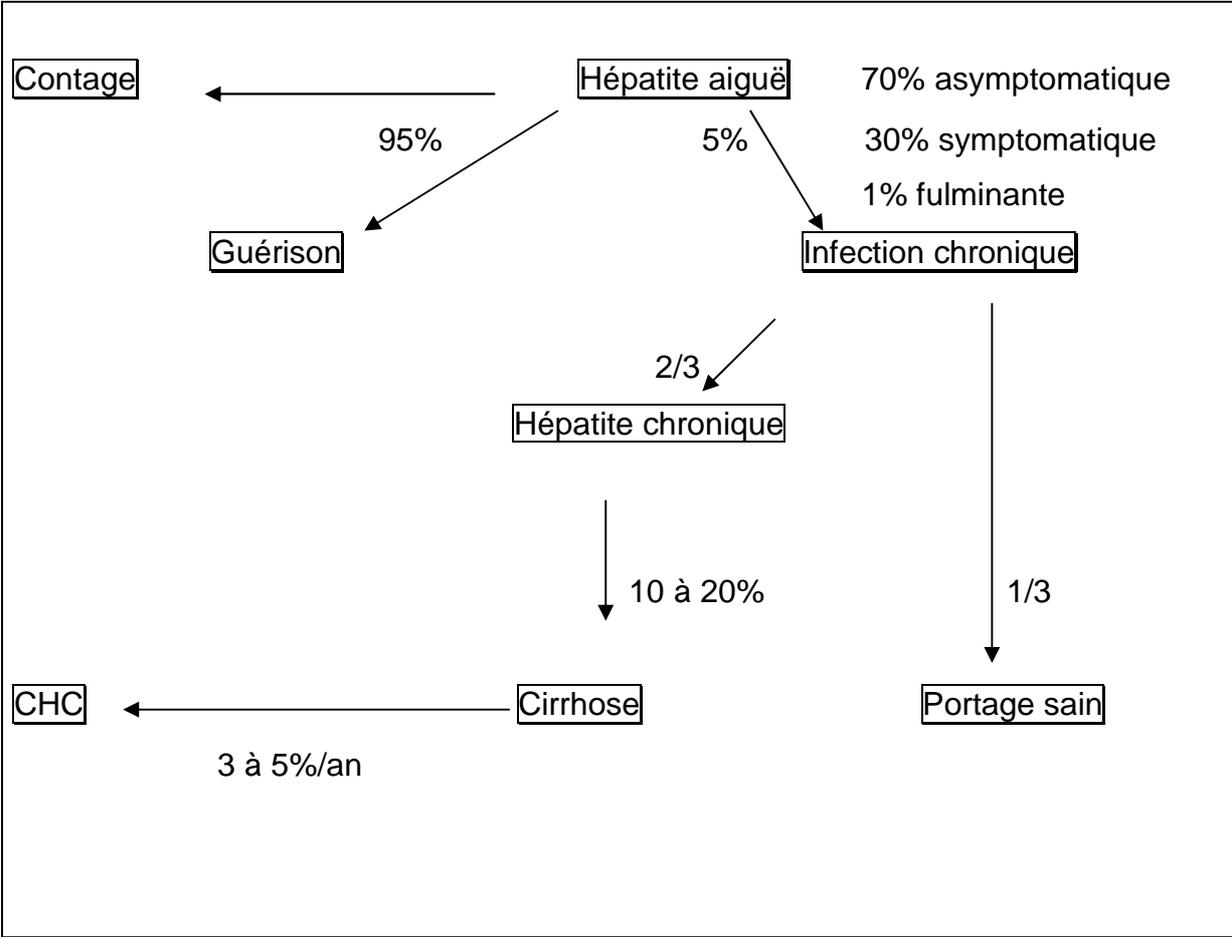
En France, d'une façon générale, le portage chronique du virus survient dans l'évolution d'environ 5% des hépatites B aiguës de l'adulte ; il est beaucoup plus fréquent chez le nouveau-né et chez les patients immunodéprimés. Les hommes restent nettement plus souvent porteurs chroniques du virus que les femmes, dans un rapport de 8/2 environ (77).

Le portage chronique du VHB n'est pas constamment synonyme d'hépatite chronique. Environ 30% des porteurs chroniques sont des porteurs « sains », c'est-à-dire n'ayant pas d'hépatomégalie histologique. L'absence d'histologie hépatique ne permet qu'un diagnostic de présomption du portage sain : 10 à 20% des patients ayant les caractéristiques biologiques et virologiques du portage sain ont une hépatite chronique (9).

Soixante-dix pour cent des porteurs chroniques du VHB développeront une hépatite chronique dont 20% évolueront vers la cirrhose. Celle-ci expose, particulièrement chez le sexe masculin, un risque nul de développement d'un carcinome hépatocellulaire de l'ordre de 3% à 5% (25). Après la phase de multiplication active du VHB durant 5 à 20 ans, la multiplication cessera spontanément : une séroconversion d'anticorps anti-HBc contemporaine d'une disparition de L'ADN du VHB sérique survient avec une probabilité de 5% par an chez un porteur chronique (13).

Cette séroconversion spontanée, parfois bruyante voire fulminante, coïncide généralement avec la constitution de la cirrhose. La maladie deviendra inactive avec possibilité de la clairance de l'AgHBs, des « réactivations », comme des reprises de la multiplication virale sont possibles, spontanées ou favorisées par une immunosuppression (54). Après plusieurs années d'inactivité de la maladie virale,

une clairance de l'AgHBs est observée chez la moitié des patients qui ont alors un profil sérologique de guérison de l'hépatite (anti-HBs et anti-HBc détectables, AgHBs et ADN du VHB négatifs) malgré l'existence habituelle d'une hépatopathie cirrhotique qui expose au risque de carcinome hépatocellulaire (77).



**Résumé de l'histoire naturelle de l'infection virale B (77)**

## **B / INFECTION CHRONIQUE PAR LE VIRUS DE L'HEPATITE B**

### **1- DEFINITION :**

L'infection chronique par le virus de l'hépatite B est définie par la persistance de l'AgHBs au delà de six mois après l'hépatite aiguë (57,101).

A la suite d'une hépatite aiguë asymptomatique, le portage chronique du VHB apparaît dans environ 2 à 5% des cas chez les adultes, mais de façon beaucoup plus fréquente chez les enfants infectés tôt dans la vie (jusqu'à 90% chez les nouveau-nés infectés à la naissance) ou chez les immunodéprimés (hémodialysés, transplantés, et patients sous traitement immunodépresseur, et patients infectés par le virus de l'immunodéficience humaine) (77).

### **2- PHYSIOPATHOGENIE DE L'INFECTION VIRALE B**

Il est généralement admis que le VHB n'a que des effets cytotoxiques. La réponse immunitaire, et en particulier cellulaire, entraînerait la nécrose hépatocytaire (27). Les antigènes ciblés sont les antigènes viraux (AgHBs) exprimés sur la membrane des hépatocytes en association avec les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité. Si la réponse immunitaire reste essentielle dans la détermination de la nécrose, l'existence de mécanisme de toxicité directe est cependant suggérée par des arguments expérimentaux (transgénèse et trans-infection de lignées cellulaires) et cliniques (fibrose hépatique cholestasienne des immunodéprimés).

Cette physiopathologie explique la possibilité des lésions hépatiques de gravité très variables suivant les individus. L'hépatite aiguë bénigne reflète une réponse immunitaire adaptée qui entraîne la nécrose des hépatocytes infectés et l'élimination du virus. L'hépatite aiguë fulminante est témoin d'une réponse immunitaire trop forte qui induit une nécrose hépatocytaire massive. Le portage asymptomatique correspondant à un phénomène de tolérance immune sans nécrose hépatocytaire, le portage chronique du virus avec hépatite chronique où la réponse immunitaire existe mais insuffisante pour éliminer le virus (52).

### **3- ETUDE BIOLOGIQUE**

#### **3-1 Examens Complémentaires :**

##### **❖ La Biologie :**

A la biologie, l'antigène HBs et l'antiHBc type IgG demeurent positifs. L'activité sérique des transaminases (ALAT/ASAT) normale ; les phosphatases alcalines (PA), le taux de prothrombine (TP), l'électrophorèse des protéides sont normaux ; l'ADN virale n'est pas détectable par la technique d'hybridation.

##### **❖ La polymérase Chain Reaction (P.C.R) :**

L'ADN virale est détectable mais inférieure à 400 copies/ml.

##### **❖ La ponction biopsie hépatique :**

La ponction biopsie hépatique (PBH) est un examen capital en hépatologie. Elle participe au diagnostic (syndromique plus qu'étiologie) et à l'établissement du pronostic de très nombreuses maladies du foie. Depuis l'avènement de l'échographie et de la voie transjugulaire, elle expose à peu de complications mais ne doit être proposée qu'au terme d'une démarche clinique et biologique rigoureuse visant à reconnaître les indications mais les exigences techniques et les limites (notamment d'interprétation) afin d'en tirer, avec le pathologiste, le maximum d'enseignements pour son patient (53).

Elle permet le prélèvement d'un fragment hépatique soit par voie transpariétale (à l'aveugle dans les lésions diffuses ou écho-guidée dans les lésions localisées), soit par voie transjugulaire.

#### **3-2 Le portage asymptomatique de L'AgHBs**

##### **3-2-1 Définition :**

La définition stricte du portage « asymptomatique » associe cinq critères :

1. Absence de symptômes cliniques
2. Absence de cytolysse = ALAT durablement normale
3. Absence de répllication virale : Anti HBe (+), ADN virale (-) recherché par la méthode d'hybridation.
4. Absence d'infection concomitante par les virus C, D et HIV.
5. Histologie du foie est normale mais peut retrouver une hépatopathie chronique ou une multiplication virale active.

Cette définition fait distinction entre porteur « asymptomatiques » et porteurs « sains » ce dernier ayant une histologie hépatique normale. Par ailleurs, chez 50% de ces porteurs « sains » une multiplication à minima est détectable par les techniques d'amplification génique (PCR) mais à des titres faibles < 400 copies /ml. C'est ainsi que certains auteurs préfèrent les dénommer porteurs « inactifs » plutôt que « sains » (9).

### **3-2-2 L'hépatite chronique :**

Deux tiers des porteurs de l'antigène HBs vont développer des lésions d'hépatite chronique définies histologiquement par l'association des lésions nécrotico-inflammatoires et de fibrose mises en évidence sur une biopsie hépatique réalisée au moins 6 mois après l'infection aiguë et biologiquement par la persistance d'une élévation des transaminases plus de 6 mois après hépatite virale B aiguë.

La distinction classique entre forme persistante quasi asymptomatique ou silencieuse et forme active parlante n'a plus lieu d'être (5,77).

### **DIAGNOSTIC POSITIF :**

Le symptôme le plus fréquent est l'asthénie qui est variable d'un malade à un autre et qui peut varier dans le temps chez un même malade. Cette asthénie peut simuler un symptôme dépressif. Parfois, le patient se plaint de douleurs de l'hypochondre droit souvent modérées et intermittentes. Il n'est pas rare que la maladie soit découverte au stade de cirrhose lors d'une complication (ascite, ictère ou hémorragie digestive).

L'hépatite chronique est le plus souvent de découverte fortuite à l'association d'un don de sang.

L'examen clinique est le plus souvent normal. Parfois, il existe une hépatomégalie. A un stade tardif, en cas de cirrhose, on peut retrouver des signes cliniques d'insuffisance hépatocellulaire ou d'hypertension portale (5).

## **Les anomalies biologiques sont :**

- l'élévation habituellement modérée des transaminases (entre 1 et 5 fois la normale). La transaminase ALAT est presque toujours supérieure à la transaminase ASAT en l'absence de cirrhose ; l'inverse est le plus fréquent en cas de cirrhose.
- La gamma GT est modérément élevée (entre 1 et 3 fois la normale) ; son élévation est proportionnelle à l'élévation des transaminases :
- Les phosphatases alcalines sont habituellement normales ;
- Les gammas globulines sont normaux ou modérément élevées ;
- La bilirubine n'est pas élevée et le taux de Quick n'est abaissé qu'en cas d'insuffisance hépatique due à une cirrhose.

## **A L'anatomie pathologie :**

### **❖ Hépatite chronique B persistante :**

L'architecture lobulaire est conservée, on trouve un infiltrat inflammatoire fait de cellules mononuclées dans les espaces portes qui n'envahit pas le lobule hépatique. Les signes de nécroses hépatocytaires sont absents ou très rares. La fibrose est minime et limitée aux espaces portes. Le risque de cirrhose est classiquement faible, mais des formes de passage de l'hépatite chronique vers l'hépatite chronique active sont possibles, notamment en cas d'immunosuppression, marqué par une fibrose extensive contrastante avec des lésions modérées ou minimales, de nécroses et d'inflammations (77).

### **❖ Hépatite chronique B active :**

On observe un infiltrat inflammatoire constitué de cellules mononuclées à prédominance portale ; surtout s'il s'étend dans le lobule hépatique, rongant ainsi la lame bordante. Cet infiltrat s'associe à des lésions de nécroses hépatocytaires. Le terme de *pice-meal* nécrosis désigne la nécrose d'hépatocytes situées à proximité de la zone de fibrose (soit dans les espaces portes soit dans les lobules) et entouré de cellules mononuclées. Cette lésion pourrait refléter la lyse de cellules secondaires à des mécanismes immunologiques. Dans de rares cas, la nécrose focale atteint les hépatocytes à l'intérieur du lobule : c'est l'hépatite chronique lobulaire, isolée ou associée aux lésions habituelles, à prédominance portale et péri portale, de la classique hépatite chronique active.

Si cette nécrose focale est la plus fréquente, la nécrose peut être étendue, intéressant des travées hépatocytaires entières, réunissant en pont un espace porte et une ou deux veines centrolobulaires (bridging necrosis).

Elle s'étend parfois en pont entre deux veines centrolobulaires ou un espace porte et une veine centrolobulaire (bridging fibrosis).

Il est ainsi important d'analyser en particulier la lame bordante hépatocyttaire qui est constituée par la rangée d'hépatocytes située à la jonction entre le lobule hépatique et l'espace porte : la disparition de cette lame bordante reflète le caractère extensif de l'infiltrat inflammatoire et de la fibrose.

L'infiltrat inflammatoire et la nécrose sont associés à une fibrose qui a débordé les espaces portes et s'étend elle aussi dans les lobules. L'architecture hépatique est conservée au moins au début. Après un délai variable, les nodules de régénération apparaissent, signant la constitution de la cirrhose : ce risque évolutif des hépatites chroniques actives peut être d'emblée mis en évidence lors du premier bilan d'une hépatite chronique active.

Des lésions non spécifiques peuvent être associées telles que la stéatose, des nodules lymphoïdes, des rares atteintes des canaux biliaires ou des signes de cholestase (77).

### **3-3 Evolution de l'infection chronique par le VHB**

#### **3-3-1 Le portage asymptomatique de l'AgHBs :**

L'histoire naturelle des porteurs asymptomatiques de l'AgHBs est frappée du sceau de la bénignité. Ils sont faiblement contagieux et certains d'entre eux, bien que rares, peuvent compléter après plusieurs années leurs séroconversions AgHBs-anti-HBs (3 à 5% /an) (13). Cependant, ils restent théoriquement exposés à 3 risques principaux :

- ❖ La réactivation virale B avec ses propres risques d'aggravations histologiques et d'évolution vers la cirrhose. Celle-ci peut survenir soit spontanément, soit surtout à l'occasion d'un traitement par les corticoïdes ou par les immunosuppresseurs. Ce risque évalué par certaines études prospectives restes faibles (< 5% / an) (48).

- ❖ La surinfection par le virus D est principalement liée à la résidence géographique (bassin méditerranéen) et à certaines pratiques (toxicomanie, homosexualité masculine).
- ❖ Le carcinome hépatocellulaire par intégration du génome du VHB dans le chromosome des cellules hépatiques.

### **3-3-2 L'hépatite chronique B persistante :**

Le risque d'évolution de l'hépatite chronique B persistante vers une cirrhose est faible voire nul. Il est actuellement admis que le tiers des hépatites chronique B persistantes évolue vers une hépatite chronique active (5).

### **3-3-3 L'hépatite chronique B active :**

L'hépatite chronique B active a un risque très élevé d'évolution vers un carcinome hépatocellulaire avec ou sans cirrhose (13,5).

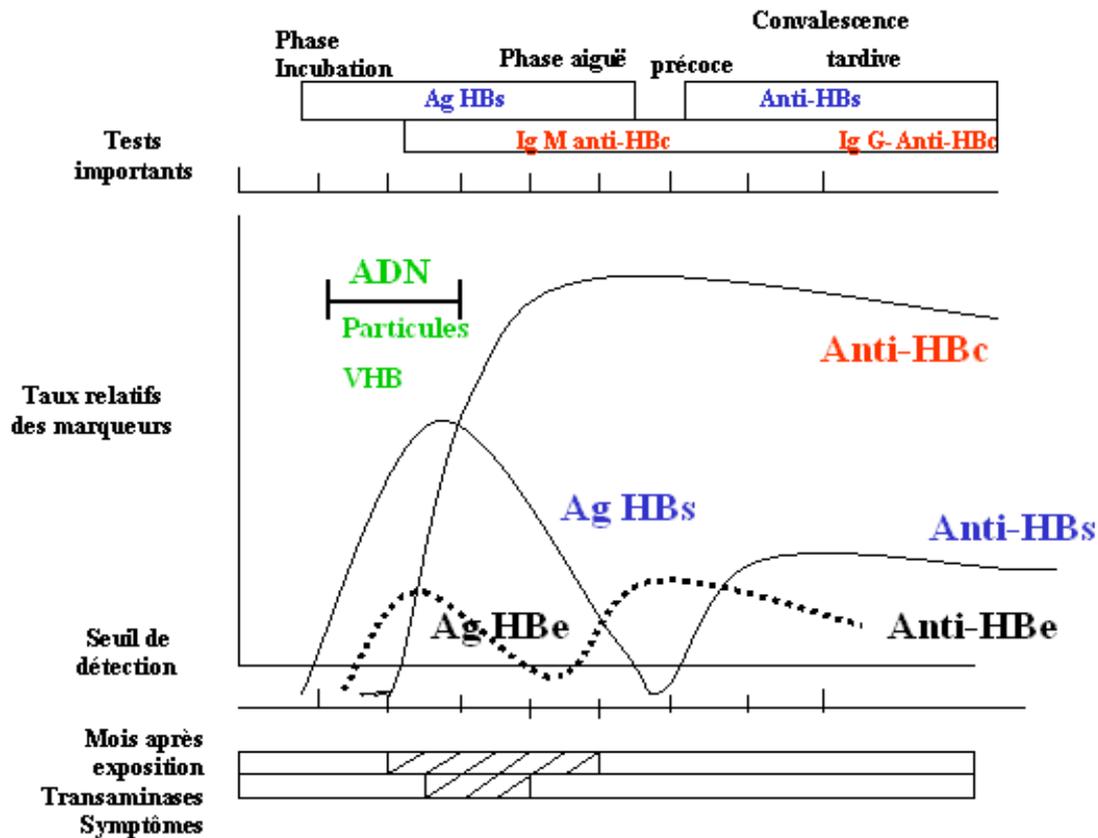


fig3 : Courbe d'évolution favorable d'une hépatite aiguë

Module santé et environnement – maladie transmissibles

<http://www.edu.org/edudiant/hépatites.html>

#### ▪ Cirrhose :

La survenue d'une cirrhose est un événement fondamental dans l'histoire naturelle de l'hépatite chronique B. Maladie du foie caractérisée par la présence de trousseaux de fibrines de tissus conjonctifs en nodules enserrant les cellules du foie et induisant une désorganisation totale de la structure normale de celles-ci (8).

Les principales causes sont : l'alcool, les virus de l'hépatite B et C, les hépatites auto-immunes, l'hémochromatose génétique, la maladie de Wilson et les cirrhoses biliaires primitives et secondaires. On assiste à des complications suivantes:

- ❖ Hypertension portale, ou augmentation de la pression sanguine dans le foie, elle entraîne la formation de varices oesophagiennes pouvant se compliquer par des hémorragies digestives et une ascite.
- ❖ L'insuffisance hépatocellulaire, ou carcinome hépatocellulaire ainsi que l'hypertension portale sont responsables d'une grande partie de la morbidité et de la mortalité de l'infection virale B. L'incidence de cirrhose au cours de l'infection virale B est de 2% par an. Le délai d'apparition d'une cirrhose après une infection virale serait de 20 à 30 ans après le contage (101).

#### ▪ **Carcinome hépatocellulaire**

Le risque relatif de développer un carcinome hépatocellulaire dans les zones endémiques chez les porteurs d'antigène HBs et / ou ayant des anticorps anti-HBc est de 10 à 300 selon les zones d'endémies. L'intégration directe au génome de l'hôte du virus de l'hépatite, la mutation par insertion et de transactivation de gène par les protéines virales X et pré-S2, expliquent la survenue d'un carcinome hépatocellulaire en absence de cirrhose chez les patients atteints d'infection virale B. L'interaction avec d'autres facteurs étiologiques tels l'alcool, le virus de l'hépatite C, la cirrhose, est cependant probable (28).

Ainsi en cas d'infection virale B, le risque de carcinome hépatocellulaire lors de la consommation d'alcool est multiplié par 2,7 (13).

### **1-2- Les marqueurs de l'infection du VHB et leur signification :**

#### ❖ **Antigène HBs :**

La détection de l'antigène HBs dans le sang du sujet, signifie l'infection par le virus. L'AgHBs est détectable dans le sérum des sujets infectés entre 2 et 6 semaines après l'infection. Sa persistance de plus de 6 mois témoigne d'un portage chronique (92).

#### ❖ **Anticorps anti-HBs :**

Lors d'une hépatite aiguë, l'anti-HBs ne devient détectable que quelques mois après la disparition de l'antigène HBs et lui confère une immunité durable vis-à-vis d'une infection par le virus de l'hépatite B. Son apparition témoigne l'arrêt de la réplication virale en absence d'une vaccination, une infection ancienne (100).

#### ❖ **Antigène HBc :**

Il est témoin de la réplication virale dans le tissu hépatique d'une personne infectée par le virus de l'hépatite B (51).

#### ❖ **Anticorps anti-HBe :**

Il ne confère aucune immunité vis-à-vis du virus de l'hépatite B. Associé à l'AgHBs, il traduit une infection en cours. L'infection peut être datée en déterminant la classe de l'anticorps IgM ou IgG (51).

Le type IgM anti-HBe traduit une hépatite B récente et le type IgG traduit une contamination ancienne. Les sujets porteurs de cet anticorps sont potentiellement infectieux et demandent une surveillance régulière jusqu'à l'apparition de l'anti-HBs. Sa présence en absence d'AgHBs peut correspondre soit à une infection persistante soit à une guérison.

#### ❖ **Antigène HBe**

La présence d'antigène HBe soluble associée à la capsid du virus de l'hépatite B témoigne d'une réplication virale et d'une contagiosité importante (22). La persistance de l'antigène HBe plus d'un mois est un indice précoce de passage à la chronicité. L'anti-HBe apparaît dans le sérum quand l'AgHBe n'est plus détectable. Sa présence est témoin de l'absence de réplication virale. Cependant, certains sujets Anti-HBe positif peuvent avoir une infection virale active surtout si dans l'hépatocyte existe AgHBc ou l'ADN viral (51).

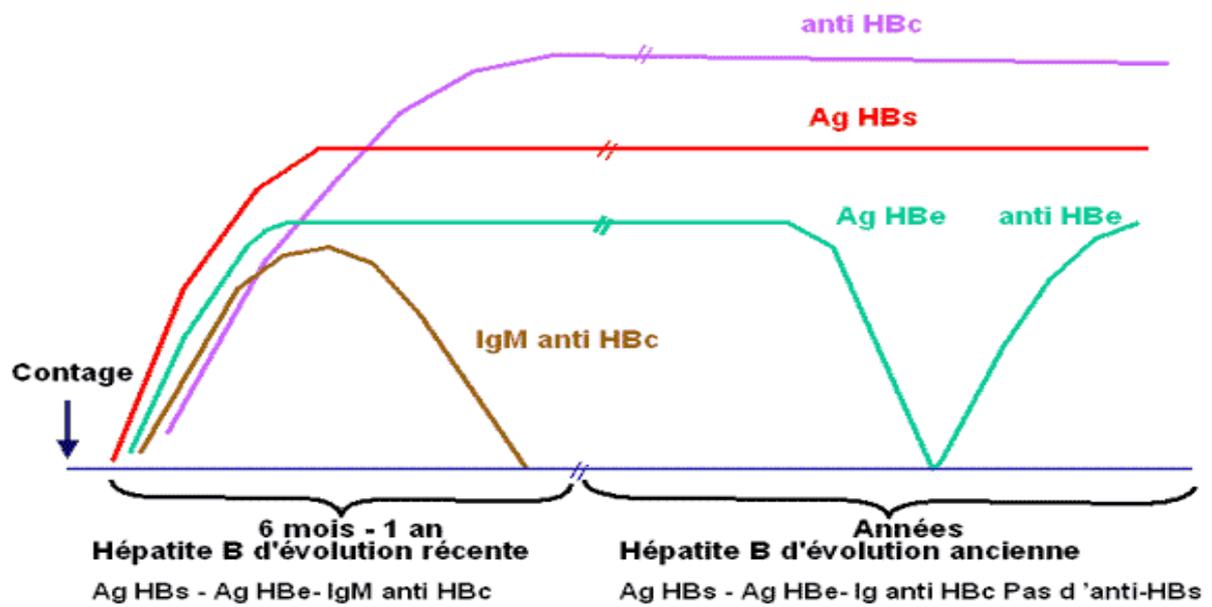


fig 4: évolution des marqueurs virologiques et sérologiques après une hépatite aiguë évoluant vers la chronicité.

Module santé et environnement – maladies transmissibles

<http://www.edu.org/edudiant/hépatites.html>

**Tableau I : Signification des marqueurs de l'hépatite virale B (19)**

<b>MARQUEURS</b>	<b>SIGNIFICATION</b>
AgHBs+, Anti HBc+, Anti HBs-	Hépatite aiguë ou porteur chronique du virus B
AgHBs-, Anti HBc+, Anti HBs-	Hépatite virale aiguë en voie de guérison avant l'apparition d'anti-HBs ou porteur chronique (taux faible) ou très rarement infection passée à virus B
AgHBs-, Anti HBc+, AntiHBs+	Contact antérieur avec le virus B et immunisation naturelle
AgHBs-, Anti HBc-, AntiHBs+	Immunisation par vaccination ; contact très ancien avec le virus B (rarement)
AgHBe+, Anti HBe-, ADN+	Réplication virale B active
AgHBe-, Anti HBe+, ADN-	Absence de réplication virale B
AgHBe-, Anti HBe+, ADN+	Probable infection par un virus mutant

### **1-3- Epidémiologie de l'hépatite B**

#### **a) prévalence de l'HVB dans le monde :**

L'infection par le virus de l'hépatite B est une affection largement répandue dans le monde : selon l'OMS plus de 2 milliards de personnes sont rentrées en contact avec le virus de l'hépatite B dont environ 350 millions en deviennent porteurs chroniques (96). L'hépatite B est donc répandue dans le monde entier, et considérée par l'O.M.S comme une des dix plus meurtrières de toutes les maladies infectieuses. La mortalité attribuable aux infections par le VHB est de 1 à 2 millions d'individus chaque année. Cette mortalité est principalement liée aux complications de l'hépatite chronique, à savoir la cirrhose et le cancer primitif du foie.

Cette prévalence est fonction du mode de vie, des facteurs socio-économique et génétique, avec une prédominance de l'Ag HBs en Asie du Sud et en Afrique. On distingue schématiquement trois zones endémiques :

- L'Europe de l'ouest et l'Amérique du Nord constituent des zones de faible endémie avec 0.1 à 1% de porteurs d'AgHBs et à peu près 2 à 10% ayant été en contact avec le virus. Dans ces régions la transmission parentérale et la transmission sexuelle semblent prédominer.
- L'Europe du Sud, la région méditerranéenne, le moyen orient et l'Amérique Latine sont des zones endémiques moyennes avec 2 à 5% ayant été en contact avec le virus. Dans ces régions prédominent la transmission sexuelle et celle de la mère à l'enfant.
- Enfin de grandes parties de L'Asie et de L'Afrique tombent dans les zones de forte endémicité avec 5 à 25% de prévalence de l'AgHBs et plus de 85% ayant été infecté à une période de la vie. Dans ces régions, la transmission de la mère à l'enfant et entre petits enfants est certainement importante (cf module8 : Maladies transmissibles par le sang ; prof .GOUBAU P).

## **b) Mode de transmission de l'HVB :**

La transmission du virus découle de la notion suivante :

- La contamination se fait essentiellement par voie parentérale. Si le virus et l'AgHBs sont présents dans de nombreux liquides biologiques : sperme, sécrétion vaginale, salive, lait maternel, bile, leur concentration est de 100 à 1000 fois inférieure à celle du sang, ce qui rend négligeable le risque de transmission par ces liquides biologiques (61,77).

### **b-1 Voie parentérale :**

- Les transfusions sanguines ont été pendant longtemps la voie préférentielle de transmission du VHB. Le risque d'hépatite post-transfusionnelle était proportionnel au nombre d'unité transfusée et au nombre de donneurs utilisés pour préparer une unité ou un dérivé de sang (13).

- La toxicomanie par voie intraveineuse est de loin le mode le plus fréquent dans les pays développés (13).

- d'autres mécanismes de transmissions parentérales (la circoncision, l'excision, les scarifications, les tatouages) ont été évoqués tout particulièrement en Afrique (59,56).

### **b-2 Transmission non parentérale :**

- Les travaux de Krugman ont montré qu'une contamination était possible par voie orale, ceci dans des conditions expérimentales très particulières (injection d'une très grosse quantité de particule virale) ; la présence du VHB dans la salive des malades a fait incriminer un mode de contamination oro-orale directe ou indirecte (baiser, gouttelette de salive dans l'atmosphère) (100).

- La transmission par voie sexuelle : le partenaire d'un sujet antigène HBs positif a de grande chance de devenir lui même un porteur de l'AgHBs ; aussi le risque de portage de l'AgHBs apparaît d'autant plus important que le nombre de partenaire augmente. Ceci a été démontré aussi bien chez les prostitués que chez les homosexuelles (56).

- La promiscuité semble être un autre facteur important de la transmission de l'hépatite B surtout dans les collectivités fermées (handicapés mentaux, prisonnier, crèches) et la transmission intra familiale (59).

### **b-3 Transmission mère enfant :**

La contamination mère enfant est le mode de transmission le plus fréquent dans les pays à forte prévalence de l'hépatite B. Le risque pour un nouveau né d'être infecté par le VHB est de 100% lorsque sa mère développe une hépatite aiguë à antigène HBs et antigène HBe positifs lors du troisième trimestre de la grossesse ou lorsqu'elle est porteuse chronique de ces marqueurs (54).

### **c)- Méthodes de diagnostics biologiques :**

Les techniques sont basées sur le principe de la réaction Ag-Ac. Il faut distinguer :

#### **c-1 Les méthodes de première et deuxième génération :**

- . Immuno-diffusion
- . Electro-immunodiffusion :
- . Fixation du complément par le complexe Ag Ac
- . Hémagglutination passive

Ces méthodes sont actuellement abandonnées au profit des méthodes de troisièmes générations.

#### **c-2 Les méthodes de troisième génération :**

##### **❖ Méthodes immuno-enzymologique :**

Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA)

##### **Principe :**

On fixe un sérum AgHBs sur des godets ; on dépose le sérum supposé contenir l'AgHBs et après incubation et laver, on ajoute une immunoglobine purifiée Anti-HBs marquée par une enzyme : la peroxydase. La révélation de la présence de l'enzyme permet la mise en évidence de L'AgHBs. La méthode est longue, onéreuse, manquant parfois de spécifié mais très sensible.

##### **❖ Méthodes radio- immunologiques : RIA**

Elles nécessitent un laboratoire de radio-immunologique. C'est une méthode spécifique, très sensible et surtout quantitative.

**Principe :**

C'est une méthode basée sur la technique « sandwich ».

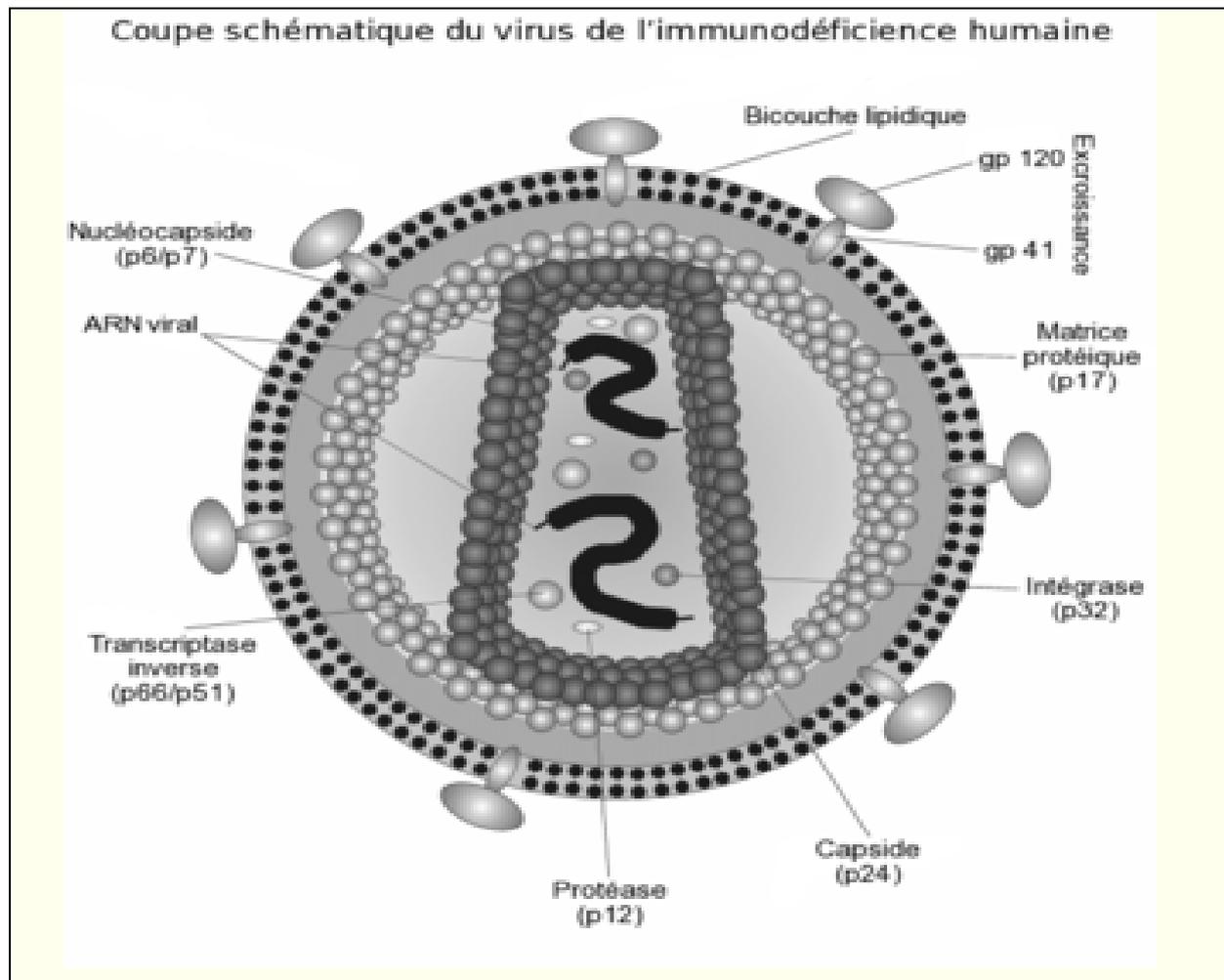
On fait incuber le sérum du malade avec des billes de polystyrène préalablement recouverte d'anticorps (si on recherche l'antigène) ou d'antigène (en cas de recherche d'Ac) puis après un lavage avec de l'eau distillée.

On fait ensuite agir sur l'incubât un Ac marqué à l'iode<sup>125</sup> :I<sup>125</sup> (en cas de recherche d'Ag) et un Ag marqué à l'iode 125 (pour la recherche de l'Ac).

Après une deuxième incubation, on obtient soit « sandwich Ag de l'échantillon à tester Ac radio actif et Ag froid », soit un « sandwich Ac de l'échantillon à tester Ag radio actif et Ac froid ».

**2- le virus de l'immunodéficience acquise :**

Les virus de l'immunodéficience humaine appartiennent à la famille des rétrovirus. Ils sont définis essentiellement par leur mode de réplication. Ces virus possèdent en effet un ARV de haut poids moléculaire transcrit en un ADN dit « proviral » grâce à une enzyme contenu dans le virion et caractéristique de cette famille : la transcriptase inverse (ou RT, du terme anglo-saxon *reverse transcriptase*) (97).

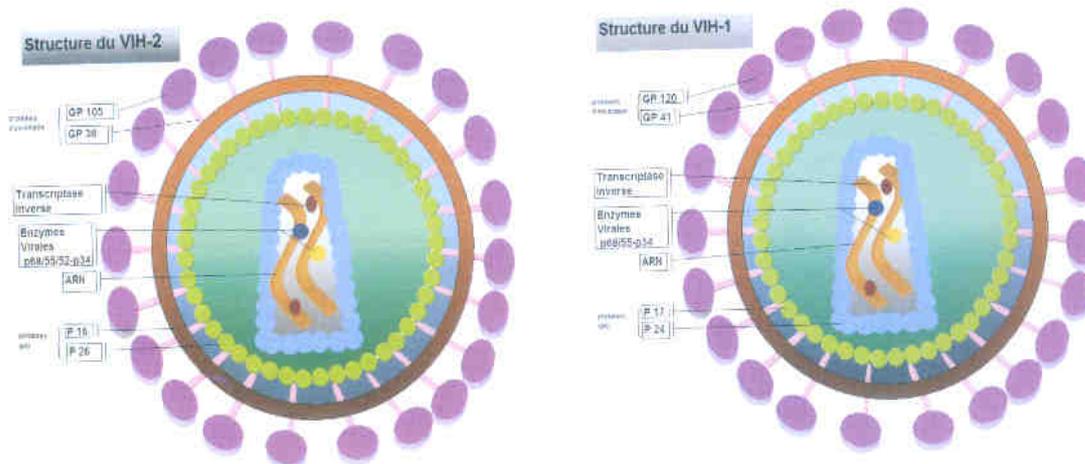


**fig 5 : Le VIH, virus responsable du sida selon GALLO, R.C in [www.google.fr / article/](http://www.google.fr/article/) de Wikipédia, encyclopédie libre.**

*Le VIH est un virus enveloppé possédant, une nucléocapside dense excentrée quelque fois en forme de trapèze ou de barreau. En microscopie électronique, les deux virus présentent une morphologie similaire. La nucléocapside est constituée par des protéines internes du virus, la transcriptase inverse et de l'ARN viral.*

## 2-1- Le VIH et SIDA :

Dès la première description du SIDA en 1981, les chercheurs ont identifié 2 sérotypes du VIH, l'agent responsable du SIDA. Le VIH-1 est le type prédominant à l'échelle mondiale. L'infection par le VIH-2 est la plus courante en Afrique de l'ouest, mais elle survient aussi en Afrique orientale, en Europe, en Asie et en Amérique latine. Les deux sous types provoquent le SIDA et leur mode de transmission sont les mêmes. Toutefois, la transmission serait légèrement plus difficile pour le VIH-2 et l'évolution vers le SIDA plus lente (2).



**fig 6 : Structure du VIH-1 et VIH-2 ; Adaptée de N.T Constantine et al. In dépistage et contrôle de qualité. Guide du personnel de laboratoire AIDSTECH, 1991**

### a) Contamination :

Le virus entre dans l'organisme puis gagne les ganglions lymphatiques où il va se multiplier essentiellement dans les lymphocytes CD4+. Au cours de cette phase qui peut durer jusqu'à 48 heures, il n'y a aucun signe clinique ou biologique permettant de faire le diagnostic (95).

### b) Primo-infection par le VIH :

Le virus se multiplie en grandes quantités dans les ganglions lymphatiques et qui deviennent palpables cliniquement. Par la suite, des quantités importantes de virus sont libérés dans le sang.

Cette virémie peut être objectivée par la mesure de la charge virale plasmatique et de la recherche de l'antigène P24 ; elle augmente rapidement. Dans 50% des cas, cette primo-infection est suivie de signes spécifiques : fièvre, arthralgie, céphalées et polyadénopathies. Lorsque les signes cliniques sont importants au cours de la primo-infection, il faut craindre une rapide évolution vers le stade de SIDA. La charge virale plasmatique, qui est la quantité de virus présent dans l'organisme, se positive dès le 7<sup>ème</sup> jour. L'antigène P24 peut être détecté à partir du 15<sup>ème</sup> (95).

#### **d) Séropositivité par le VIH :**

Le diagnostic positif de la primo-infection à VIH repose essentiellement sur la biologie. En effet aucun signe clinique, seul ou même associé, n'est suffisamment sensible et /ou spécifique pour affirmer le diagnostic de la primo-infection à VIH (20). trois types de marqueurs plasmatiques peuvent être utilisés pour le diagnostic de primo-infection qui ont par ordre chronologique d'apparition :

- ❖ **l'ARN VIH** : c'est le marqueur le plus précocement détectable, dès 10 jours après la contamination.
- ❖ **l'Antigène P24** : il est détectable 15 jours après la contamination et persiste 1 à 6 mois après la contamination.
- ❖ **Les anticorps anti-VIH** : ils deviennent détectables par les tests ELISA en moyenne 22 à 26 jours après contagion.

Le Western blot permet de préciser la cinétique d'apparition des anticorps : Les premiers à apparaître sont ceux dirigés contre les protéines d'enveloppe (gp 160, gp 120, gp 41) et contre l'antigène P24.

#### **e) La séroconversion :**

Elle débute par l'apparition des anticorps anti-VIH dans la circulation, au plus vite la 3<sup>ème</sup> semaine et au plus tard le 7<sup>ème</sup> mois après la contamination ; le délai moyen d'apparition est de 6 à 8 semaines.

Ces anticorps augmentent rapidement dans le sang alors que la virémie va chuter de façon très importante. Le virus ne se multiplie plus que dans les organes lymphoïdes et la virémie reste basse ; cette phase va durer en moyenne 8 ans. Cette multiplication virale est inhibée par l'action des lymphocytes CD4+ ( T-cytotoxique ) qui détruisent les cellules infectées puis par les anticorps qui vont limiter la fixation

sur les cellules cibles. Cette phase est cliniquement muette, cependant l'altération continue des lymphocytes CD4+(T-helper ou mémoires ) va aboutir progressivement à une rupture de l'équilibre qui s'est établi entre répllication intra ganglionnaire du virus et la réponse immunitaire. On passe alors à la phase de SIDA maladie (95).

**f) Le syndrome de l'immunodéficience acquise ou SIDA :**

Pendant que le nombre de lymphocyte CD4+, cellules à rôle capital dans l'immunité, chute à moins de 200 cellules par mm<sup>3</sup> de sang (la normale est comprise entre 1000/mm<sup>3</sup>), les défenses de l'organisme ne peuvent plus être assurées et la maladie commence. La virémie augmente de façon importante et devient facilement détectable ; des infections opportunistes caractéristiques de l'immunodépression s'installent. On est alors au stade de SIDA qui peut se traduire également par des manifestations nerveuses dues à l'atteinte du système nerveux central ou par un sarcome de kaposi caractérisé par des lésions cutanées de couleur brune violette, infiltrées dans le derme(18,29).

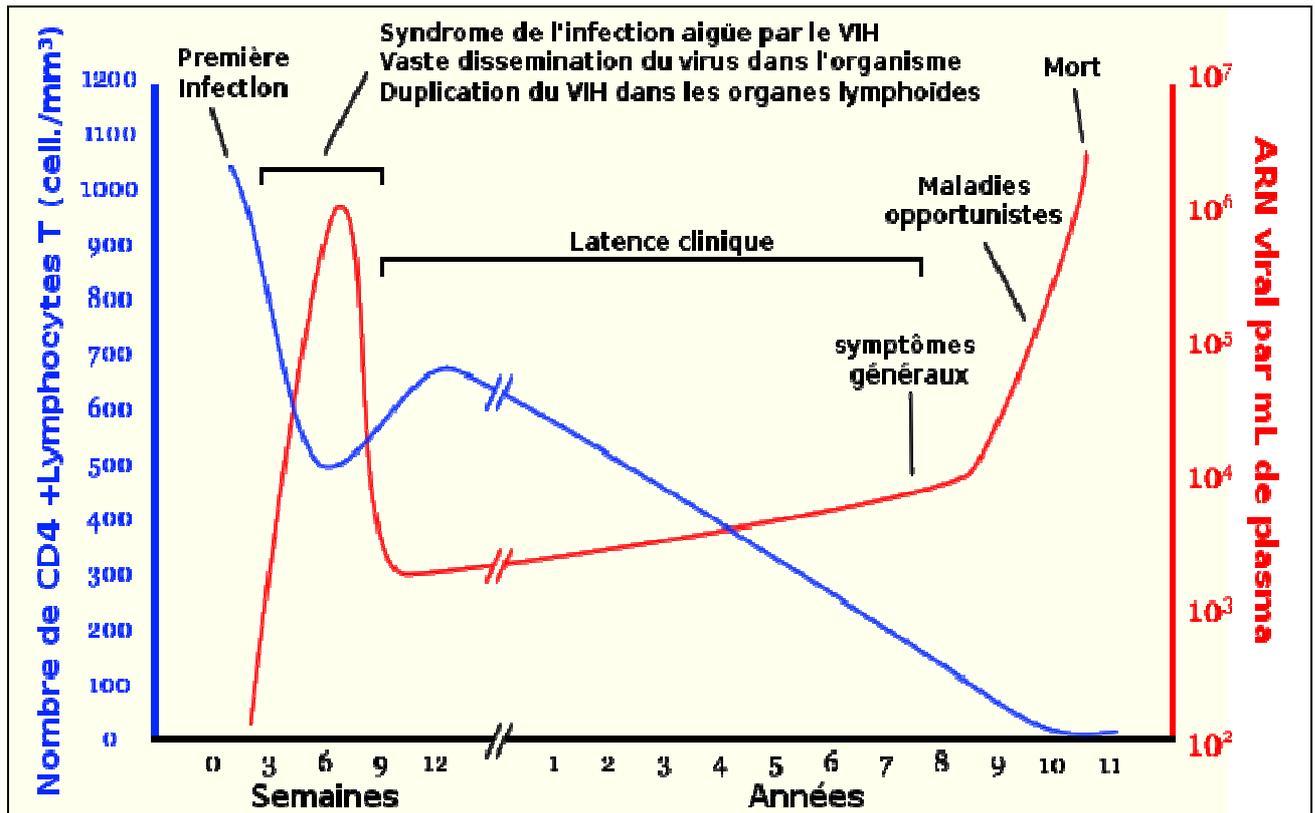


fig 7: Evolution cinétique des différents marqueurs du VIH, selon pr. Gallo R. C.Sarin, in [www.google.fr](http://www.google.fr) article de Wikipédia encyclopédie libre.

#### g) Classifications des manifestations cliniques et anomalies biologiques :

A partir de 1993, le *Center for Diseases Control* (CDC) a proposé une nouvelle classification de l'infection par le VIH, en trois stades de sévérité croissante, sans possibilité pour un même patient d'appartenir simultanément à deux stades ni de revenir, au cours de son évolution, à un stade antérieur. Cette classification, fondée à la fois sur des paramètres cliniques et sur la numération des lymphocytes **CD4+** (tableau -I), s'articule mieux avec la définition du sida. Elle est devenue la référence internationale, du moins lorsque le taux de lymphocytes **T CD4+** est disponible en routine.

**Tableau II:** Classification CDC de l'infection pour les adultes et les adolescents (révision 1993)

<b>Catégories cliniques</b>			
<b>Nombre de lymphocytes T CD4+</b>	<b>(A) Asymptomatique Primo-infection Lymphadénopathie généralisée persistantes</b>	<b>(B) Symptomatique Sans critères (A) ou (B)</b>	<b>(C) Sida</b>
> 500/mm <sup>3</sup>	A1	B1	C1
200 - 499/mm <sup>3</sup>	A2	B2	C2
< 200/mm <sup>3</sup>	A3	B3	C3

Correspondance entre valeur absolue et pourcentage des lymphocytes T CD4+ :

**CD4+**  $\geq 500$ / mm<sup>3</sup> correspondant à CD4+  $\geq 29\%$

**CD4+** compris entre 200 et 499 / mm<sup>3</sup> correspond à 14 – 28%

**CD4+** < 200 / mm<sup>3</sup> correspondant à CD4+ < 14%

1. *Syndrome cachectique du VIH : perte de poids > à 10% du poids corporel ; plus diarrhée chronique inexpliquées (>1mois) ; ou asthénie chronique accompagnée de fièvre prolongée inexpliquée (> 1mois).*

2. *Encéphalopathie à VIH : manifestations cliniques consistant au dysfonctionnement cognitif et /ou moteur incapacitant, perturbant les activités quotidiennes, évoluant depuis plusieurs semaines à plusieurs mois, absence ou de maladie concomitante, non due au VIH et susceptible d'expliquer le tableau clinique.*

## **2-2-Epidémiologie du VIH/SIDA :**

### **a) Dans le Monde :**

A l'échelle mondiale, les plus touchés par l'infection au VIH, sont les pays en développement, où vivent 95 % des porteurs du virus (91).

A la fin de l'année 2002, on estimait qu'il y avait dans le monde 42 millions d'adultes et enfants vivant avec le VIH ou le SIDA. On recensait 28,5 millions d'entre eux (68%) en Afrique subsaharienne et 6 millions (14%) en Asie du Sud et du Sud-est. On estime qu'en 2002, 5 millions d'adultes et d'enfants ont été infectés par le VIH et que 3,1 millions sont morts du SIDA. On a recensé 2,4 millions de décès (77%) en Afrique subsaharienne, où la séroprévalence moyenne du VIH est la plus élevée dans la population adulte (9% fin 2002 chez les 15 - 49 %). Le rapport de l'ONUSIDA/OMS du 21 novembre 2006 estime qu'il y a 39,5 millions de personnes qui vivent avec le VIH dans le monde, 4,3 millions de nouveaux cas d'infection et 2,9 millions de décès dus au sida au cours de l'année 2006. Sur les 25 pays où la séroprévalence du VIH chez l'adulte dépassait 5% en fin 2001, 24 se trouvent en Afrique subsaharienne. D'autres pays sont très affectés avec des séroprévalences chez l'adulte situées entre 1 à 5% : Cambodge, Myanmar et Thaïlande en Asie du Sud-est ; Belize, Guatemala, Guyana, Haïti, Honduras, Panama et Suriname dans les Amériques. Il semble que la séroprévalence du VIH se stabilise en Afrique subsaharienne, mais elle continue de croître dans certains pays ayant une population importante, comme la Fédération de Russie (2).

### **b) En Afrique :**

L'Afrique subsaharienne est la région du monde la plus touchée par le VIH et le SIDA : en fin 2002, 29,4 millions d'Africains étaient infectés (60). Cela représente 70% du total mondial pour une population qui compte à peine 10% de la population du globe. En 2002, L'ONUSIDA/OMS estime que 58% des adultes porteurs du VIH sont des femmes. Le taux de prévalence chez les adultes et 15 et 49 ans est de 8,8%, cependant il existe une grande variation selon les pays : au Botswana (38,8%), au Zimbabwe (33,7 %), au Swaziland (33,4%), et au Lesotho (31%) (80).

Selon le rapport de l'ONUSIDA/OMS du 21 novembre 2006, elle renferme seule 24,7 millions de personnes vivant avec le VIH, 2,8 millions de nouveaux cas d'infection et 2,1 millions de décès dus au sida pendant l'année 2006 (83).

Ailleurs, en Afrique occidentale et centrale, on constate des croissances inquiétantes même si la séroprévalence reste encore relativement faible, dans les pays comme le Sénégal (moins de 1%) et le Mali (1,7%), (60). La prévalence du VIH est supérieure à 5% dans d'autres pays occidentaux et centraux, comme la République Centrafricaine (12,9%), le Cameroun (11,8%), la Côte d'Ivoire (9,7%), et le Nigeria (5,8%) (80).

En 2003, on estimait à 3 millions le nombre d'infections dans cette même région et à 2,2 millions celui des décès dus au SIDA (soit 75% des 3 millions de décès dus au SIDA cette année dans le monde) (95).

#### **c) Au Mali :**

En 2000, on estimait à plus de 100000, le nombre de personnes porteuses du VIH. Chaque jour, au moins 30 personnes s'infectent par le VIH et plus de 50 décèdent du SIDA.

En 2001, le nombre de cas de SIDA notifié par l'OMS était de 6639. Selon l'enquête EDS III 2001, la séroprévalence en générale est de 1,7% avec 2% pour les femmes et de 1,3% pour les hommes.

Il ressort des projections que le taux de prévalence du VIH pourrait atteindre 6% des adultes en 2010 soit près de 500000 personnes porteuses du VIH (33).

#### **d) Mode de transmission du virus :**

Il y a quatre modes principaux de transmission du VIH :

##### **- par voie sexuelle :**

C'est une infection sexuellement transmissible ; ce mode de contamination est le plus répandu dans le monde.

**- par le sang :** La contamination se fait par transfusion sanguine ou par injection de dérivés sanguins, non contrôlés.

**- par des objets souillés de sang (seringues, instruments, etc.) :** ces objets deviennent contaminants lorsqu'ils ont été en contact avec le sang par blessure ou autres.

- **par transmission mère enfant** : appelée aussi la transmission verticale. Cette transmission du virus de la mère à l'enfant peut survenir à différentes étapes de la grossesse.

- ***In utero*** : dans les semaines précédant l'accouchement dans un tiers des cas ;
- ***Intra partum*** : au moment de l'accouchement dans deux tiers des cas.
- **Par l'allaitement** : la période d'allaitement présente un risque d'infection pour l'enfant estimé entre 5 et 7 % (35).

Le taux de transmission materno-fœtale du VIH-1, en l'absence de traitements ARV est de 18 à 25 % et quelque soit le mode de contamination de la mère ou elle survient essentiellement lors de l'accouchement ou par l'allaitement au sein.

La transmission hétérosexuelle constitue le mode de contamination le plus fréquent, les femmes sont les plus touchées ; environ 10% des personnes sont infectées lors d'une transfusion sanguine ou par l'usage de matériels souillés(35).

#### **e) Répartition géographique des types de virus et sous types :**

Le VIH-1 est présent dans le monde entier. Il se subdivise en groupe O, M et N. Le groupe M se rencontre dans le monde entier et les groupes O et N sont identifiés au Cameroun (64). Le groupe M est subdivisé en sous-types dont la répartition mondiale est très variée (10,63). Dans les pays où l'infection par le VIH est d'introduction récente, un sous-type domine alors que dans les pays où elle est ancienne on trouve plusieurs sous-types à la fois. Cependant, cette constatation est relativisée par l'expression de l'épidémie qui se traduit par l'introduction de nouveaux sous-types dans des régions où on reconnaît un autre sous-type (94). En dehors de la prédominance actuelle, on peut donner la répartition géographique suivant des sous-types.

Il faut noter également la présence de recombinants dans diverses parties du monde, ainsi que la localisation du VIH-2 essentiellement en Afrique de l'Ouest bien que des cas aient été notifiés en Europe (25).

	GROUPE M								groupe O
	A	B	C	D	E	F	G	H	
Europe occidentale		+							France +
Russie							+		
Roumanie						+			
Afrique	+	+	+	+	+	+	+	+	+
États-Unis		+							
Amérique du Sud		+	+						
Asie :			+						
Chine			+						
Inde			+						
Thaïlande					+				
Taiwan		+							

**Tableau III:** Distribution géographique des sous types selon F. RAFFI (81).

## **2-3 Immunopathogénie de l'infection par le VIH : (2)**

### **a) Infection des cellules par le VIH :**

Le VIH infecte les cellules porteuses à la surface de l'antigène CD4. Il s'agit principalement d'un groupe de lymphocytes T jouant un rôle central dans l'immunité à médiation cellulaire, les lymphocytes CD4+. Ces dernières années, on a également découvert que le VIH avait besoins d'autres molécules sur la surface cellulaire, les chimiokines pour pénétrer dans la cellule. Les patients qui n'ont pas certaines de ces chimiokines (par exemple la CCR), résistent mieux à l'infection. D'autres qui présentent des modifications moléculaires au niveau de ces récepteurs vont évoluer plus lentement vers la phase SIDA.**fig 8**

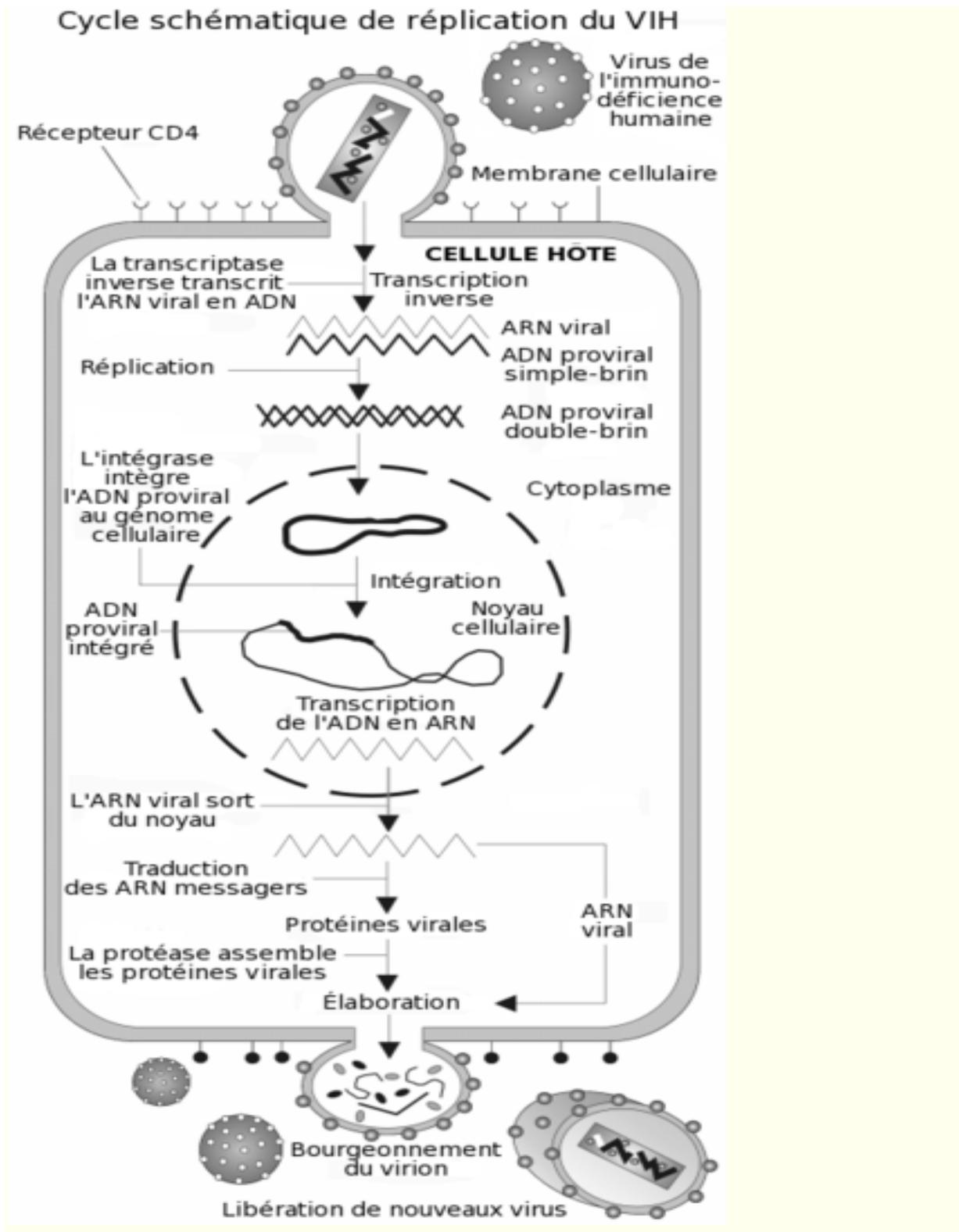


fig 8 : cycle schématique de réplication du VIH, selon pr Gallo R.C.Sarin in

[www.google.fr](http://www.google.fr) article de Wikipédia, encyclopédie libre

b) Destruction du système immunitaire par le VIH : (2)

La principale anomalie de l'infection par le VIH est la baisse progressive du nombre des lymphocytes T CD4+. Or ce sont eux qui jouent le rôle le plus important dans l'immunité à médiation cellulaire. De surcroît, les lymphocytes CD4+ survivants ne fonctionnent plus aussi bien que avant l'infection. L'infection par le VIH entraîne donc un déclin progressif de l'immunité.

### **3- Diagnostic biologique de l'infection par le VIH :**

On distingue deux types de méthodes pour le diagnostic biologique de l'infection à VIH :

Le diagnostic indirect ou sérologique, fondé sur la détection des anticorps et reste dans la majorité des cas l'approche diagnostic la plus pertinente et la plus accessible. Le diagnostic direct, fondé sur la mise en évidence du virus par multiplication en culture cellulaire par détection immunologique ou moléculaire. Il est surtout indiqué dans les cas d'échec du diagnostic indirect en particulier pendant la fenêtre sérologique de la primo-infection.

Les méthodes de référence pour la visualisation de la réaction antigène-anticorps sont actuellement les méthodes immuno-enzymatiques de type ELISA. La méthode ELISA dure seulement quelques heures et donne des résultats reproductibles il est automatisable. Il existe aussi des tests rapides, facilement réalisables et qui ne demandent pas de moyens sophistiqués : les résultats sont obtenus plus rapidement que l'ELISA par simple lecture à l'œil.

Cependant, aussi performants qu'ils sont pour les anticorps anti-VIH-1 et anti-VIH-2 au cours de la phase chronique de l'infection, ils n'offrent pas d'une manière générale le même niveau de sensibilité que les tests ELISA de troisième et quatrième génération au cours de la primo-infection. Leur avantage est leur usage dans les situations d'urgences et, du fait qu'ils différencient généralement les VIH-1 et VIH-2.

La plupart des tests de dépistage comportent le risque de résultats faussement positifs, un risque qui persiste en dépit des progrès les plus récents. Cette limite impose, en cas de positivité ou de discordance, le recours à des tests de confirmations, notamment le Western blot.

### **3-1- Diagnostic indirecte**

#### ***a) Immunofluorescence indirecte.***

##### **Principe :**

Des cellules lymphocytaires infectées par le virus sont déposées et fixées sur des lames de microscope. Des cellules identiques non infectées servent de témoins et permettent d'éliminer les fixations non spécifiques. Le sérum à analyser est mis à l'incubation, puis les anticorps présents se fixent sur les cellules et sont révélés par une antiglobuline humaine marquée à l'isothiocyanate de fluorescéine. Une réaction positive se traduit par une fluorescence observée également sur le témoin signe une fixation non spécifique d'anticorps reconnaissant les éléments cellulaires et non le virus.

#### ***b) Techniques immunoenzymatiques***

La technique actuellement la plus utilisée pour la recherche des anticorps anti- VIH est une technique immunoenzymatique : ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay). C'est une technique simple, destinée au dosage des anticorps anti-VIH dans les sérums. Elle consiste à fixer dans un premier temps l'antigène par adsorption physique sur un support solide (microplaque ou bille de polystyrène). On distingue quatre grandes variantes de la technique ELISA, dont nous citerons en exemple :

- **L'ELISA indirecte**

##### **Principe :**

Le sérum à étudier est mis d'abord en incubation en présence du support sensibilisé (microplaque ou bille) ; des complexes anticorps-Ag se forment et leur présence est révélée dans un second temps par l'adjonction d'un sérum antiglobuline humaine marqué par une enzyme. Des témoins positifs et négatifs utilisés dans chaque réaction permettent de déterminer la valeur seuil ou limite. Les sérums dont la densité optique lue au spectrophotomètre est supérieure à cette valeur sont considérés comme positifs.

- **L'ELISA par compétition**

##### **Principe :**

Les anticorps anti-VIH de l'échantillon à tester entrent en compétition avec les anticorps du conjugué (sérum anti-VIH marqué par une enzyme). Vis à vis des

antigènes viraux fixés sur le support solide. Plus la concentration d'anticorps dans l'échantillon est élevée, moins l'antigène conjugué se fixera. Le substrat chromogène donnera une réaction colorée qui sert inversement proportionnelle à la concentration en anticorps. Les témoins permettent de calculer une valeur seuil. Les sérums dont la densité optique est inférieure à cette valeur sont considérés comme positifs.

### ***c) Les tests rapides.***

- **La technique d'agglutination (16)**

#### **Principe :**

Cette méthode est basée sur le principe d'agglutination passive des billes de polystyrène ou des hématies humaines servant de support aux protéines virales du VIH (naturelles ou produits de génie génétique). En présence d'anticorps anti-VIH, elles forment un réseau d'agglutination visible à l'œil nu. Ces tests peuvent être effectués sur une lame (test au latex) ou sur plaque de micro-agglutination (hémagglutination passive avec lecture de culot de sédimentation des hématies). Ils présentent un atout supplémentaire sur l'ELISA car leur exécution très simple ne nécessite aucun appareillage. L'amélioration de leur spécificité pourrait entraîner leur expansion.

- **La technique d'immunofiltration ou DOT BLOT (11)**

**Principe :** Elle utilise une membrane en papier ou de nitrocellulose comme support solide. L'antigène est fixé sur un support solide et prend la forme d'un petit cercle ; il s'agit le plus souvent d'un peptide synthétique ou recombinant. Une pièce en plastique soutient en général le support solide et contient des tampons hydrophiles sous le papier pour recueillir le sérum et les réactifs après addition. Il existe deux types d'« Immunodot » en phase solide.

- Immunodot sur carte.

Les cartes plastifiées ont la forme d'un peigne dont les dents sont sensibilisées par des antigènes peptidiques de synthèse du VIH-1 et VIH-2 au niveau de deux tâches séparées. Le principe du test consiste à introduire la carte successivement dans les échantillons du sérum (disposés dans les puits d'une plaque contenant tous les réactifs nécessaires déposés dans différents compartiments de la plaque) dans une solution de lavage, dans le conjugué marqué par une enzyme, une nouvelle fois dans une solution de lavage et enfin dans le substrat chromogène. Il se forme une réaction colorée caractéristique d'un résultat positif

- Immunodot sur membrane.

Les antigènes du VIH-1 et VIH-2 immobilisés sur une membrane sont soit sous forme d'une tâche unique, soit sous forme de deux tâches distinctes. Le sérum dilué ou non dilué est ajouté directement sur la membrane. Les anticorps anti-VIH du sérum se lient aux antigènes présents sur la membrane. Le complexe immun formé est traité au moyen d'un conjugué marqué à une enzyme. Un substrat ajouté donne une tâche colorée caractéristique d'une réaction positive.

#### ***d) Tests de confirmations.***

- **La radio – immunoprécipitation (RIPA) (16)**

##### **Principe :**

Utilise un virus marqué par un isotope radioactif (en général la cystéine 35). Le lysat viral contenant les antigènes à l'état natif est incubé avec le sérum à tester. Les complexes immuns formés sont alors captés sur un support d'affinité tel que des billes de protéine A-sepharose. Les antigènes viraux retenus par les anticorps spécifiques sont ensuite élus et séparés en fonction de leur poids moléculaire sur le gel de polyacrylamide. La révélation est effectuée par autoradiographie. Cette technique met en évidence préférentiellement des anticorps dirigés contre les protéines d'enveloppe et de ce fait elle constitue un apport complémentaire d'informations pour les échantillons sériques d'interprétation délicate en Western Blot. La RIPA est un test de confirmation très sensible, réservé à des laboratoires agréés.

- **Le Western Blot.**

**Principe :**

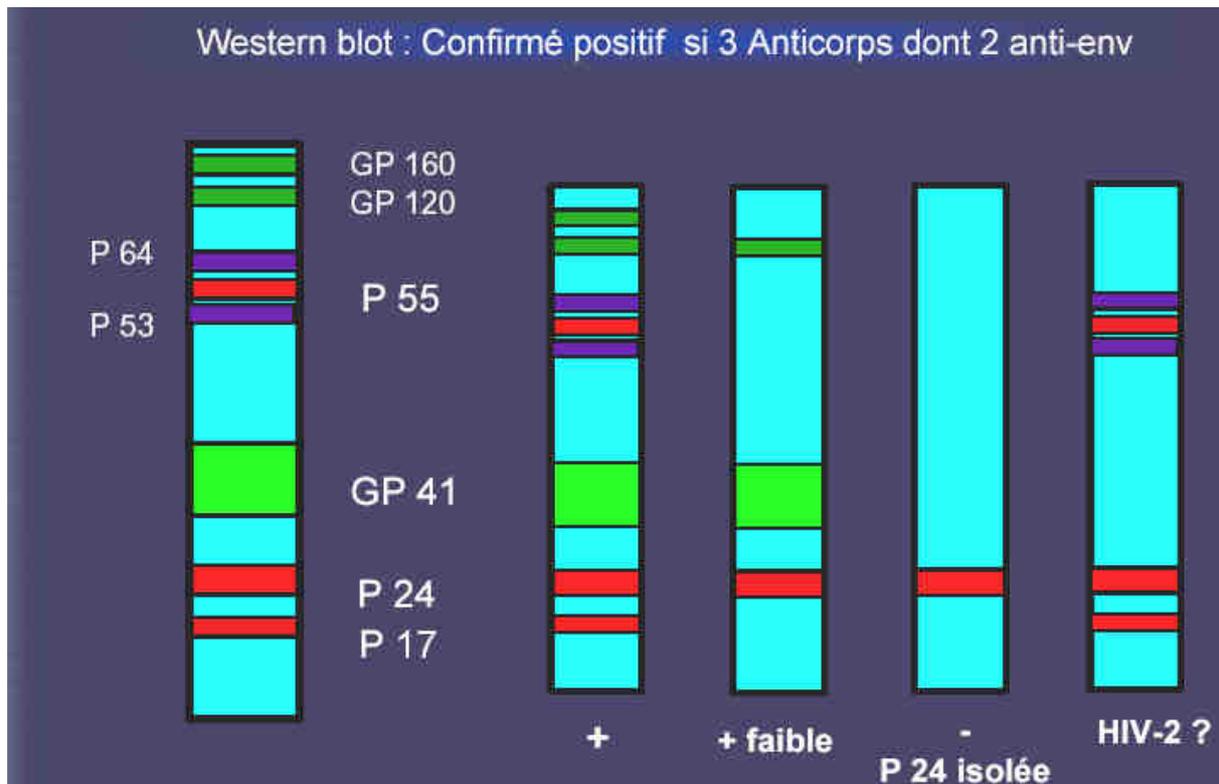
Après fragmentation d'une culture de virus, les protéines virales sont séparées par électrophorèse en gel d'agarose dans lequel elles vont migrer en fonction de leur poids moléculaire : les grosses molécules (gp 160, gp 120) migrant moins facilement que les petites (gp 41, p 17). Les protéines sont séparées en "buvardant" le gel (**to blot** = buvarder) avec une feuille de nitrocellulose. Cette feuille est découpée en bandelettes. Une bandelette est immergée dans un petit bac contenant le sérum à contrôler : si ce sérum contient des anticorps spécifiques du VIH, ils se fixent aux antigènes et la fixation des anticorps est révélée par **une technique ELISA** identique à celle utilisée pour le test de dépistage. Pour cela un anticorps anti IG humaine marqué par une enzyme est ajouté suivi du substrat de cette enzyme. **Une bande colorée apparaît pour chaque protéine virale sur laquelle s'est fixée un anticorps** (41). Plusieurs critères de positivité ont été définis.

- Critères de positivité du W-B définis par l'OMS. Le W-B doit révéler au moins **deux bandes correspondant aux produits du gène env** (pour VIH-1 : les produits de ces gènes sont **gp 160, gp 120, gp 41**), et ceci quelle que soit la réactivité des bandes correspondant au produit des gènes *gag* ou *pol*.

**Chez un sujet séropositif**, le Western blot est "complet" : il met en évidence des anticorps dirigés contre l'ensemble des protéines virales.

L'apparition de bandes colorées ne correspondant pas aux critères d'un W-B positif définit **un W-B indéterminé**. Ceci peut traduire :

- **une séroconversion en cours pour le VIH-1** : elle sera affirmée par l'examen d'un nouveau sérum prélevé après un délai de 2 à 4 semaines au cours duquel les anticorps spécifiques vont atteindre un taux détectable.
- **une infection par le VIH-2** : qui devra être confirmée par un test spécifique de ce virus (ELISA et W-B).
- **une réactivité non spécifique** : si, sur un autre prélèvement pratiqué 2 à 4 semaines plus tard et **à fortiori** 2 à 3 mois plus tard, le profil du W-B reste identique, il s'agit d'une réactivité non spécifique : **il n'y a pas d'infection par le VIH** (41, 35).



**fig 9:** western blot confirmé positif Source: western blot bandelette HIV. pdf

Chaque anticorps qui se fixe sur la bandelette correspond à une protéine spécifique du virus.

### 3-2- Diagnostic directe :

#### **a) La détection de l'antigène du virus**

**Principe :** C'est une méthode ELISA. Les anticorps d'un sérum polyclonal fixés sur le fond des puits d'une microplaque ou sur des billes de polystyrène sont mis en présence du sérum à tester et se lient à l'antigène viral au cas où il serait présent. On réalise plusieurs lavages. La présence de l'antigène est révélée par des anticorps anti-VIH de lapin ou de chèvre marqués par une enzyme. On dit que l'antigène est pris en sandwich. La présence de la coloration spécifique du produit de la réaction enzymatique et l'intensité de la coloration permet une quantification de cet antigène. En pratique c'est essentiellement la protéine p24 qui est mise en évidence. la sensibilité est faible mais utile pour la mise en évidence précoce du virus.

### ***b) La réaction de polymérisation en chaîne (PCR)***

**Principe :** C'est une technique de détection qui consiste à amplifier artificiellement une portion du génome du virus. Elle peut s'appliquer à l'ARN du virus et dans ce cas elle est appelée NASBA (Nucleic Acide Sequence Base Amplification) ou la retrotranscription (RT-PCR). C'est actuellement la méthode de référence de diagnostic direct (4).

## **4- Co-infection VHB/VIH :**

### **4-1- Notion de la pathogenèse sur l'infection VHB/VIH**

Le VIH infecte les cellules porteuses à leurs surface de l'antigène CD4 (Lymphocyte CD4+); avec pour résultats la destruction d'un grand nombre d'entre elles (diminution progressive du nombre de lymphocytes CD4+). Or, ce sont ces cellules qui jouent le rôle le plus important dans l'immunité à médiation cellulaire.

La persistance de l'AgHBs au delà de 6 mois après l'hépatite aiguë, traduit l'infection chronique par le virus de l'hépatite B. Ce portage chronique du VHB apparaît dans 2 à 5% des cas chez l'adulte, les enfants infectés à bas âge et jusqu'à 90% chez les nouveau-nés infectés à la naissance, les immunodéprimés, les sujets sous traitement immunosuppresseurs, puis ceux infectés par le virus de l'immunodéficience humaine(66).

Il en résulte une atteinte des antigènes viraux (AgHBc et à moindre degré AgHBs) exprimés sur la membrane des hépatocytes en association avec les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité dont la principale fonction est de servir comme présentateur d'antigènes pour les lymphocytes T qui ne peuvent, pour une réponse spécifique reconnaître leur antigène que s'il est associé à une molécule du CMH du sujet (45). Alors il en résulte l'altération de divers mécanismes cellulaires par les deux pathologies. L'infection directe des cellules exprimant l'épitote CD4 entraîne des défauts de la fonction des lymphocytes T, ce qui a pour conséquence de limiter sévèrement la production de cytokines activant les macrophages ; d'où la formation de nécrose, l'existence de mécanisme de toxicité directe par transgenèse et transfection de lignées cellulaires aussi des fibroses hépatiques cholestasiques des immunodéprimés. Ceci explique la survenue des lésions hépatiques de gravité

variable suivant les individus : l'hépatite aiguë bénigne reflète une réponse immunitaire adaptée qui entraîne la nécrose des hépatocytes infectés, une hépatite fulminante aiguë témoigne d'une réponse immunitaire trop forte qui induit une nécrose hépatocytaires massive. Le VIH diminue la fréquence des arrêts spontanés de multiplication virale et augmente celle des réactivations ; puis accélère la vitesse de progression vers la cirrhose.

#### **4-2 Interaction entre VIH/VHB :**

##### **- Impact des infections virales hépatotropes :**

Les facteurs de risque d'infection par le VIH et les virus hépatotropes étant identiques, les hépatites virales, surtout chroniques, sont fréquentes chez les sujets infectés par le VIH(57). La co-infection par le VHC est la plus fréquente, notamment chez les toxicomanes (de 35 à 90%) ou chez les hémophiles (de 60 à 85%), alors qu'elle est de 4 à 8% dans la population homosexuelle masculine. Chez les hémophiles, le génotype du VHC pourrait être impliqué dans l'aggravation de l'évolution de l'infection VIH chez les patients co-infectés, un génotype pour l'infection à VHC étant associé à une évolution plus sévère de l'infection à VHC.

Ces résultats contradictoires sont probablement liés à la non croissance de la durée exacte d'évolution de la charge virale VIH. Des études semblent toutefois retrouver une décroissance plus rapide des CD4, comparées à un groupe témoin mono-infecté par le VIH. Néanmoins, la responsabilité du VHC, suspecté d'être un facteur de progression de l'infection à VIH n'est pas claire. En revanche, il est retrouvé une sévérité accrue de l'hépatite C en cas de coinfection par le VIH. 70% des patients infectés par le VIH présentant des Anticorps contre le VHB. La vitesse de progression vers la cirrhose est la plus rapide chez les sujets infectés par le VIH que chez les sujets immunocompétents, malgré une activité plus faible (28).

##### **- Impact du VIH sur le VHB :**

La coinfection par le VIH pour le VHB se caractérise par :

##### **En phase aiguë**

Le passage à la chronicité est significativement plus élevé que chez les sujets VIH-

- Patients homosexuels, prévalence du portage chronique de l'Ag HBs passe de 6 % à 20 %
- Patients toxicomanes, prévalence du portage chronique de l'Ag HBs passe de 3 % à 89 %

### En phase chronique

- L'immunodépression, induite par le VIH, semble, en diminuant la réaction à médiation cellulaire dirigée contre les hépatocytes infectés, induire une tolérance immunitaire qui favoriserait la réplication du VHB.
  - **Plus forte réplication**, avec un taux moyen d'ADN du VHB sérique de 1 271 pg/ml contre 460 pg/ml dans le groupe VIH-1
  - Etat d'immunodépression limite le conflit immunologique au niveau du foie, avec des lésions de nécrose hépatocytaires généralement modestes, et ce d'autant plus que l'évolution dans la maladie VIH est avancée.
  - Agressivité des lésions histologiques plus importante aux stades II et III du CDC, qu'au stade IV mais à confirmer.
  - Hépatites virales B cholestatiques et fibrosantes de mauvais pronostic ont été rapportées chez des patients infectés par le VIH
  - Réactivations rapportées, avec dans certains cas par une évolution fulminante avec cytolyse majeure chez malades profondément immunodéprimés, (CD4<50 éléments/mm<sup>3</sup>) au décours d'une corticothérapie ou d'une chimiothérapie.
- Disparition de l'Ag HBe moins souvent observée, en cas de séropositivité associée. Une prévalence plus élevée des marqueurs sérologiques d'infection dans la population générale et par une plus grande fréquence des formes chroniques (34).

- ❖ des modifications fréquentes de l'expression sérologique des infections virales avec des phénomènes de réplication active (détection de L'ADN viral B) contrastant avec l'absence de détection de l'AgHBs, voire tout marqueur d'infection par le VHB ;
- ❖ des modifications de l'histoire naturelle de l'infection hépatotrope avec une hépatopathie plus sévère, caractérisée par des cirrhoses de constitution plus fréquentes et plus rapides et par une plus grande fréquence de mortalité liée au foie.

Environ 80 à 90% des sujets infectés par le VIH ont également été exposés au virus de l'hépatite B et environ 10% des sujets infectés par le VIH sont porteurs de l'AgHBs (89). Ce pourcentage pourrait être en réalité supérieur si l'on considérait non plus la présence de l'AgHBs mais celle de l'ADN viral B. L'immunosuppression liée à l'infection VIH modifie l'histoire naturelle de l'infection virale B. Elle est également responsable d'une majoration de la réplication virale et d'une augmentation du taux de passage à la chronicité en cas d'hépatite aiguë : une co-infection simultanée VIH/VHB augmente ainsi significativement le risque d'hépatite chronique du fait de l'immunosuppression plus importante que celle observée en cas d'infection par le VHB chez le sujet précédemment infecté par le VIH. L'infection par le VIH diminue la fréquence des arrêts spontanés de multiplication virale et augmente celle des réactivations qui sont fréquents chez environ un tiers des patients et parfois sévères (89).

L'immunosuppression associée au VIH pourrait s'accompagner d'une majoration de la sévérité des lésions hépatiques avec une évolution plus fréquente et plus rapide vers la cirrhose. Cette plus grande sévérité des lésions hépatiques en cas de co-infection n'est pas rapportée dans toutes les études mais était bien décrite dans certains sous-groupes de sujets tels les toxicomanes et ceci indépendamment de l'infection par le virus de l'hépatite D et la consommation d'alcool (24). L'hépatite fibrosante cholestasique, qui associe, une fibrose extensive, une cholestase, une absence de nécrose et qui évolue en quelques semaines à un mois vers l'insuffisance hépatique terminale, est lié à une accumulation massive d'antigène viraux dans les hépatocytes du fait d'une multiplication virale intense favorisée par le déficit immunitaire (50).

La Lamivudine, couramment utilisée dans le traitement de l'infection à VIH (sous le nom de 3TC), permet le traitement concomitant de l'infection VHB en cas de co-

infection et a considérablement modifié l'histoire naturelle de l'infection virale B chez les sujets co-infectés par le VIH (6).

#### **- Modifications et intrusions thérapeutiques du VHB :**

Le traitement Antiviral des hépatites chroniques à long terme est imparfaitement évalué dans la population générale. Cependant, le facteur principal associé à la survie sans complication d'une hépatite virale B est la clairance de l'AgHBe, plus rapidement (voire plus fréquemment) obtenue par le traitement antiviral (67).

Pour les patients co-infectés par le VIH, il a été suggéré que les traitements classiques par l'interféron alpha ou vidarabine étaient moins efficace qu'en absence d'infection par le VIH. Cependant, une fréquence non négligeable d'arrêts de multiplication virale était obtenue chez les patients ayant une hépatopathie sévère (100). Le bénéfice clinique de ces traitements ne pouvait être évalué, puisque ces patients mouraient de leur infection VIH.

La situation a changé de nos jours. En effet, les thérapeutiques antiretrovirales, notamment la Lamivudine et l'Adéfovir, ont une meilleure efficacité contre le VHB dont le mode réplicatif inclut une étape de reverse transcriptase peuvent améliorer leur efficacité. Parallèlement à cette efficacité antivirale croissante, la restauration immunitaire induite par la multi thérapie anti-VIH, devrait permettre un control optimal des infections virales B des sujets co-infectés par le VIH et ainsi diminuer la morbidité et la mortalité liées à l'infection virale B. Cependant, on ne méconnaîtra pas les risques :

- d'hépatites médicamenteuses possiblement accrues et provoqués aux inhibiteurs de protéases **en cas d'hépatites préexistantes, et d'hépatite chronique B**
- d'une majoration des lésions hépatiques, liées à la restauration immunitaire induite par les multi thérapies Anit-VIH.
- de réactivations parfois plus sévères, en cas d'arrêt de la molécule efficace sur la multiplication virale B.
- en cas de prolongation de traitement, d'un échappement lié à la sélection de la souche mutée minoritaire en début de traitements et évoluant parfois sous une forme sévère, voire sous la forme d'une fibrose cholestasique.

### **4-3 Epidémiologie de la co-infection VIH/VHB**

90% des sujets infectés par le VIH ont des marqueurs sérologiques du VHB, 10% sont porteurs chroniques de l'antigène HBs (50).

Chez les toxicomanes intraveineux, il peut exister une co-infection avec le VHD. Ils présentent un portage chronique de l'AgHBs qui passe de 3% à 89%.

En phase aiguë, Le passage à la chronicité est significativement plus élevé chez les sujets VIH-1 ; les patients homosexuels présentent une séroprévalence du portage chronique de l'AgHBs et de l'antigène HBe, qui passe de 6% à 20% ; alors que ce chiffre est de l'ordre 5% dans la population sans VIH (49). Ce passage à la chronicité semble d'autant plus fréquent que le taux de CD4+ est bas.

#### **4-4-1 Réservoirs de virus**

Le VHB et le VIH se trouvent dans le sang, le sperme, le flux menstruel et d'autres liquides de l'organisme d'une personne infectée par ces virus. Les séropositifs en VIH asymptomatiques et les porteurs du VHB pourront transmettre ces virus à d'autres personnes, à travers ces produits biologiques ce qui explique la forte proportion d'infection par ces virus.

#### **4-4-2 Les groupes à risques :**

Le VHB et le VIH se transmettent au cours des activités sexuelles non protégées, lors du partage de seringues, lors d'une piqûre accidentelle avec une aiguille souillée, ou encore par contact direct de sang ou autres liquides biologiques infectés par les muqueuses( bouche, yeux, ou d'une plaie cutanée).

Ces virus peuvent être transmis de la mère à son enfant, habituellement lors de la naissance. Ces virus ne sont pas transmissibles par les poignées de mains, les étreintes, le partage de nourriture, ainsi que l'échange de vêtements.

Les personnes à risques sont essentiellement :

- ❖ Les toxicomanes qui partagent leurs seringues ;
- ❖ Les homosexuels mâles ;
- ❖ Toute personne qui a une relation sexuelle non protégée avec une autre personne préalablement infectée par ces virus ;
- ❖ Toute personne ayant plusieurs partenaires sexuels ;
- ❖ Les nouveau-nés de mères infectées par ces virus ;
- ❖ Les hémophiles et les patients hémodialysés ;

- ❖ Les travailleurs de la santé ;
- ❖ Toute autre personne qui a des contacts avec le sang et les liquides biologiques ;
- ❖ Les porteurs chroniques du VHB.

#### **4- 4 prophylaxies :**

Dépistage dans les banques de sang. Attention au risque en période de fenêtre sérologique ( $\pm$  3 semaines)

- Protection lors des rapports sexuels
- Utilisation unique de gants, de seringues stériles etc...
- Monothérapie anti-reverse transcriptase pour la femme séropositive enceinte.
- Suppression de l'allaitement maternel en cas de mère séropositive
- En cas de blessure accidentelle : faire saigner, rincer à l'eau, désinfecter et donner immédiatement une prophylaxie anti virale (1 moi).

### **5- TRAITEMENT du VIH et la CO-INFECTION VHB/VIH**

#### **I-TRAITEMENT ANTIRETROVIRAL :**

##### **I-1 Buts du traitement du VIH**

- Prolongation et amélioration de la qualité de vie ;
- Réduction de la charge virale au niveau le plus bas possible et le plus longtemps possible ;
- Préservation et / ou restauration de la fonction immunitaire ;
- Réduction de la morbidité et la mortalité liées au VIH ;
- Favoriser l'adhésion au traitement par les associations puissantes adaptées et simplifiées pour le patient.

##### **I-2 Les Moyens**

Les principaux antirétroviraux actuellement disponibles agissent au niveau de deux enzymes nécessaires à la réplication du VIH : La transcriptase inverse et la

protéase. Il existe également des inhibiteurs de fusion qui agissent à plusieurs niveaux.

### **I-3 Les inhibiteurs de la transcriptase inverse**

La transcriptase reverse ou inverse : est une enzymes permettant la synthèse d'ADN complémentaire à partir de l'ARN viral et agissant au début du cycle de réplication rétrovirale avant l'intégration à l'ARN de la cellule hôte.

#### **I-3-1 Les inhibiteurs nucléotidiques de la transcriptase reverse (INTR)**

Ils agissent après avoir subi une triple phosphorylation dans la cellule infectée en bloquant la réplication due à la TR, entrant en compétition avec les nucléotidiques.

#### **Zidovudine (AZT) : Retrovir. AMM : 1987**

Présentation : gélules : 100 et 200 mg ; comprimé : 300mg ; solution buvable : 100mg /10ml ; perfusion : 200mg/ml

Posologie : 200mg /ml pour enfant de plus de 3 mois : 5mg/kg en 4 prises par jour

Interaction : L'utilisation concomitante des produits myélotoxiques est déconseillée ;

Effets secondaires : anémie, leuconutropenie, myalgies, céphalées, insomnie, nausées, vomissement, hépatomégalie, stéatose hépatique, hyperpigmentation de la peau et surtout des ongles, acidose lactique.

Passage placentaire : 85%

#### **Didanosine (DDI) : Videx. AMM : 1992**

Présentation : Comprimés de 25,50, 150, 200, 250, et 400mg ;

Gélules de 250, et 400 mg ;

Poudre pour solution buvable 2 à 4 g/flacon

Posologie : en une prise par jour

- Adulte : poids supérieur ou égal à 60kg : 400mg par jour

Poids inférieur à 60kg : 250 mg par jour

- Enfant supérieur à 30 mois : 10mg/kg par jour

Interaction : Ils diminuent de plus de 50% avec l'acidité gastrique l'absorption de la DDi d'où sa prise 1heure avant ou 2 heures après le repas ;

Prendre ddi au moins 1heure avant l'indinavir ou l'amprenavir et 2,5 heures avant le ritonavir ; association contre indiquée avec les médicaments pancréatotoxiques

### **L'association DDI – D4T est toxique**

Effets secondaires : pancréatite, neuropathies périphériques, altération de la fonction hépatique, hépatomégalie, stéatose hépatique, trouble digestifs (ballonnement et crampes abdominales, diarrhée), acidose lactique, hyperuricémie, xérostomie.

Contre-indication : grossesse (n'utiliser qu'en dernier recours), allaitement, hypersensibilité.

### **Lamivudine (3TC) : Epivir**

**Cette molécule est active sur l'hépatite B**

**AMM : 1996**

Présentation : comprimé de 150mg, solution buvable : 10mg/ml

Posologie :

- Adulte : 150mg, deux fois par jour
- Enfant plus de 3 mois : 4mg /kg en 2 prises

Interaction : Eviter l'association 3TC et DDC ;

Effets secondaires : asthénie, nausées, et une élévation des transaminases, rare et peu sévères ; pancréatite et neuropathies périphériques ; réactivation d'une hépatite B chronique à l'arrêt, hyperlactatémie artérielle acidose lactique.

Passage placentaire : 100%

### **Stavudine (D4T) : Zerit. AMM : 1996**

Présentation : Gélules de 15, 20, 30,40mg

Posologie : - adultes : poids inférieur à 60kg : 30mg, deux fois par jour ;

- poids supérieur ou égal à 60kg : 40mg, deux fois par jour.

- enfant : inférieur à 30kg : 2mg/kg en 2 prises,

Supérieur ou égal à 30kg = posologie adulte.

Interaction : Ne doit pas être associée à l' AZT, en raison d'une compétition pour la phosphorylation intracellulaire ;

Effets secondaires : neuropathies périphériques ; augmentation des transaminases, pancréatite, acidose lactique, hépatomégalie, stéatose.

Contre-indication : hypersensibilité, grossesse, allaitement, neuropathie périphérique.

**Abacavir (ABC) : Ziagen. AMM : 1999**

Présentation : comprimé de 300mg ; solution buvable 20mg/ml

Posologie : adulte : 300mg, deux fois par jour

Effets secondaires : risque d'intolérance cutanée avec rash, lésions muqueuses et d'intolérance systémique avec fièvre, céphalée, diarrhée, myalgie cytolysé hépatique, pan cytopénie

Contre- indication : hypersensibilité, allaitement, insuffisance hépatique, éviter si grossesse, insuffisance rénale.

**Tenofovir (TDF) : Viread**

Présentation : Gélules de 200mg, Solution buvable de 10mg/ml

Posologie : adulte : 300mg en une seule prise par jour

Effets secondaires : sont peu fréquents.

**I-3-2 Les inhibiteurs non nucléotidiques de la transcriptase reverse (INNRT)**

Ce sont des puissants inhibiteurs très sélectifs de la transcriptase reverse. Ils sont inactifs sur le VIH-2. Ils inhibent la transcriptase reverse de façon non compétitive, en se liant directement sur le site catalytique de l'enzyme. Ils ne nécessitent pas de modification chimique pour être actif donc pas d'étape de phosphorylation préalable. Les deux molécules qui ont une AMM, la Névirapine et l'Efavirenz ont pour principale caractéristique une demi-vie d'élimination prolongée (>40 heures). Les INNRT, sont métabolisés au niveau du foie par le cytochrome et éliminés par le rein.

**Névirapine (NVP) : VIRAMUNE. AMM : 1998**

Présentation : comprimé de 200mg.

Posologie : 1 comprimé par jour pendant 14jours puis 1 comprimé deux fois par jour

Effets secondaires : rashes cutanés (les 3 premières semaines), fièvre, nausées, vomissement, céphalées, hépatite.

Contre-indications : hypersensibilité, insuffisance hépatique ou rénale, allaitement

Passage placentaire : important 100%

### **Efavirenz : Stocrin, Sustiva. AMM : 1999**

Présentation : Gélules de 50, 100,200 mg

Posologie : 3 gélules en prise unique par jour le soir au coucher

Effets secondaires : troubles neuropsychiatriques (vertiges, insomnies, troubles du sommeil, céphalées, troubles de la concentration), risque d'intolérance cutanée avec rash, hépatotoxique

Contre-indications : hypersensibilité, affection hépatique sévère, grossesse, allaitement.

### **I-3-3 Les inhibiteurs de protéase (IP)**

Les IP du VIH agissent au niveau du processus d'assemblage des protéines virales nouvellement synthétisées tout en inhibant l'action d'une enzyme clé, la protéase.

Les inhibiteurs de protéase conduisent à la production de virions immatures, défectifs et incapables d'infecter de nouvelles cellules. Ils sont actifs sur les cellules infectées de façon chronique contrairement aux inhibiteurs de la transcriptase inverse.

### **Indinavir (IDV) : Crixivan\* AMM : 1996**

Présentation : gélules de 200, 400mg

Posologie : 2 gélules, trois fois par jour

Interaction : Les aliments réduisent l'absorption de l'Indinavir donc à prendre 1 heure avant ou 2 heures après les repas

Effets secondaires : hématurie et lithiase urinaire (surtout si hydratation insuffisante) ; hyper bilirubinémie et cytolysé hépatique ; dyslipidémies et intolérance glucidique.

Contre-indication : hypersensibilité, grossesse, allaitement, insuffisance hépatique sévère

Passage placentaire : nul

### **Saquinavir (SQV) : Invirase\* AMM : 1996**

Présentation : Gélules à 200mg (Invirase\*), Capsules à 200mg (Fortovase\*)

Posologie : Invirase : 600mg toutes les 8 heures au cours d'un repas ou 2 heures après

**Fortovase** : 1200mg (6 capsules), trois par jour

Effets secondaires : troubles digestifs ; nausées, vomissements, diarrhée, douleurs abdominales, diabète, lipodystrophie, augmentation des transaminases (ALAT)

Contre-indications : Hypersensibilité, grossesse (sauf nécessité absolue), allaitement ; insuffisance hépatique sévère (Fortovase) ;

Passage placentaire : nul

**Ritonavir (RTV) : Norvir\*. AMM : 1996**

Présentation : capsule à 100mg ; solution buvable 600 mg/7.5ml,

Suspension orale à 100 mg/1.25ml (solution alcoolique)

Posologie : 600mg, deux fois par jour, à atteindre progressivement en 15 jours si possible au cours du repas

L'absorption : est de 80%

Effets secondaires : nausées, vomissements, douleurs abdominales, anorexie, agueusie, neuropathies périphériques, érythème, lipodystrophie, augmentation des transaminases, hyperlipidémie, diabète.

**Nelfinavir (NFV) : Viracept\* AMM : 1999**

Présentation : Capsule, comprimé à 250mg ; solution buvable à 50mg/ml

Posologie : 750 mg (3 comprimés), trois fois par jour à prendre au cours des repas qui augmentent de deux à trois fois l'absorption.

Effets secondaires : troubles digestifs (diarrhées, nausées, vomissements, flatulence) ; rash cutanée rare ;

Cytolyse hépatique, dyslipidémies, intolérance glucidique.

Contre-indications : hypersensibilité, arythmie cardiaque, grossesse, allaitement.

Passage placentaire : nul

**Lopinavir/ Ritonavir (LPV/r) : Kaletra\***

Présentation : Gélules à 133mg de Lopinavir + 33mg de Ritonavir

Posologie : 800mg de Lopinavir (+ 200mg de Ritonavir) en deux prises

Effets secondaires : troubles digestifs (diarrhées, nausées, vomissements, douleurs abdominales) hypercholestérolémie, hypertriglycéridémie, les dysléptiques semblent plus fréquentes et plus sévères lors de l'utilisation du Lopinavir qu'avec les autres IP.

### **I-2-1 Les associations d'antirétroviraux**

**Combivir\*** (AZT 300mg + 3TC 150mg) en comprimé

**Trizivir\*** (AZT 300mg +3TC 150mg + 300mg) en comprimé

**Triomune\*** (D4T + 3TC + NVP)

### **I-2-2 Initiateurs de fusion**

On distingue plusieurs mécanismes possibles d'inhibition de l'entrée du VIH dans l'organisme.

- ❖ L'inhibition de la liaison au récepteur CD4+
- ❖ Les inhibiteurs des récepteurs aux chimiokines : antagonistes de CXCR4 ou antagonistes de CCR5.
- ❖ Les inhibiteurs de fusion VIH/membrane cellulairment

### **Enfuvirtide (fuzeon, T-20\*). AMM 2004**

Présentation : préparation injectable de 90 mg/ml

Posologie : Adulte et Enfant > 16 ans : la dose sélectionnée est de 90 mg deux fois par jour en injection sous-cutanée. Garde une activité sur les virus résistants aux autres antiviraux.

### **I-2-3 Les Indications du traitement Antiretroviral**

#### **Recommandations de l'OMS :**

- Dans le cadre des programmes de traitement Antiretroviraux en situation de ressource limitées, l'OMS recommande de débiter chez l'adolescent et l'adulte , si leur contamination par le VIH a été confirmée et s'il entre dans l'un des cas suivants :

#### **a- Stade clinique avancé :**

- maladie à VIH de stade IV OMS, quelque soit le nombre de CD4
- maladie à VIH de stade III OMS, avec un nombre de lymphocytes CD4 <350 cellules/mm<sup>3</sup> pour la prise de décision

#### **b - Maladie à VIH stade I ou II OMS avec un nombre de lymphocytes CD4 < 200cellules/mm<sup>3</sup>.**

- Les Schémas thérapeutiques de première intension de l' OMS recommandés chez l'adulte et l'adolescent

<b>Stavudine</b> <b>Ou</b> <b>+</b> <b>Zidovudine</b>	<b>Lamivudine</b>	<b>+</b> <b>Névirapine</b>  <b>Efavirenz</b>
---	-------------------	---

- Autres possibilités pour le traitement de première intention y compris le traitement des infections des VIH-2 et VIH-1 de groupe O selon l’OMS :

<b>Stavudine</b> <b>Ou</b> <b>+</b> <b>Zidovudine</b>	<b>Lamivudine</b>	<b>Lopinavir / r</b> <b>Saquinavir/r</b> <b>Indinavir/r</b> <b>Nelfinavir</b>
---	-------------------	--

- Schémas thérapeutiques de deuxième intention recommandés par l’OMS chez l’adulte et l’adolescent en cas d’échec des schémas de première intention

En cas d’échec à :

**D4T ou AZT**

**+ 3TC+**

**NVP ou EFV**

Passer à :

**TDF ou ABC**

**+ DDI +**

**LVP/r ou SQV/r**

- pour les Femmes en age de procréer ou enceinte, le schémas thérapeutique de première intention recommandé par l’OMS est : **(D4T ou AZT) + 3TC + NVP**

L’EFV est à éviter en cas de grossesse car il est tératogène. Quand une contraception efficace peut être garantie le schéma thérapeutique ARV peut comporter l’EFV comme INNRT.

### **Le Nourrisson et l’Enfant :**

- Les associations d’ ARV recommandées par l’OMS en cas première intention

Schémas thérapeutiques de première intention	Remarques
D4T ou AZT	Choix de l’INNRT
+ 3TC	Si age < 3 ans ou perte de poids <10kg, NVP
+ NVP ou EFV	Si age > 3 ans ou poids > 10kg, NVP ou EFV

- Traitements ARV recommandés par l’OMS en cas d’échec des schémas de première intention

Schémas thérapeutiques de première Intention	Schémas de deuxième intention
D4T ou AZT	ABC
+ 3TC	+ DDI
+ NVP ou EFV	+ LP/r ou NFV ou SQV/r si poids > ou égal à 25 kg

### **- Les éléments de surveillance :**

La surveillance est un élément important du traitement ARV. Elle est clinique et biologique. Après l’inclusion dans le cadre de l’IMAARV, le suivi se fait comme suit :

- A un mois (M1) : on fait un interrogatoire minutieux, un examen physique complet et un examen biologique comportant : NFS, Glycémie, Créatininémie, Transaminases ;
- A deux mois (M2) : idem M1 ;
- A six mois (M6) : M2 + CD4 ;
- Puis tous les six mois (M12, M18...) : idem M6.

En dehors de ses examens complémentaires, d’autres bilans seront demandés en fonction de l’état clinique du patient.

Cette surveillance permet d’évaluer l’observance, la tolérance et l’efficacité du traitement.

## **II- TRAITEMENT DE LA CO-INFECTIION VHB/VIH :**

### **II-1 But du traitement :**

Comme toujours, le but du traitement est l’élimination du virus. Dans le cas de l’hépatite B, cette élimination est peut-être possible, mais aucun marqueur ne permet à ce jour d’affirmer qu’elle a eu lieu. Le véritable objectif d’un traitement de l’hépatite B est donc ce qu’on appelle une “réponse virologique prolongée”, c’est-à-dire une charge virale maintenue à un niveau suffisamment bas pour qu’il n’y ait plus de progression de l’atteinte hépatique.

Se pose alors la question du maintien de cette réponse après l'arrêt du traitement (arrêt obligatoire quand il s'agit de l'interféron, qui est forcément utilisé en cure d'une durée limitée) (44).

## **II-2 Moyens thérapeutiques :**

### **a- Molécules :**

#### ➤ **L'interféron alpha**

Dans les formes évolutives d'hépatite chronique des résultats partiels sont obtenus par traitement à L'Interféron alpha recombinant (7,46). C'est un traitement lourd, à la dose de 5 à 10 millions d'unités 3 fois par semaine pendant 4 à 6 mois ; efficacité est semblable à celle rencontrée chez les mono-infectés VHB ; contraintes importantes et tolérance médiocre.

**Les effets secondaires** sont notables, en particulier syndrome pseudogrippal neutropénie et plus rarement état dépressif potentiellement dangereux (suicide) ou un dysfonctionnement thyroïdien.

Les résultats sont inconstants.

La forme retard de l'interféron (l'interféron couplé à une molécule de polyéthylène glycol) est en cours d'évaluation ; ses avantages seraient une meilleure tolérance et une meilleure efficacité.

On dispose de l'interféron alpha et bientôt du PEG-interferon, et de médicaments antirétroviraux actifs sur le VHB et le VIH, ce qui est à la fois un avantage et une difficulté.

#### ➤ **Lamivudine (3TC) (Epivir®)**

300mg/j ; disparition de l'ADN viral après 2 mois de traitement mais risque de résistance virale chez 20% des patients à 1 an, 66% à 14% personnes/année.

**La Lamivudine**, a pour avantage sa simplicité d'utilisation, sa faible toxicité, sa présence dans de nombreuses multithérapies, sa bonne efficacité sur la réplication du VHB (6,7).

Elle est prise par voie orale à la dose de 100 mg par jour pendant 1 an. Son principal inconvénient est d'induire constamment des mutations de résistance du VHB, de ordre de 20% par an.

Utilisée en monothérapie, elle induit rapidement des mutations du VIH. Il existe un risque élevé de rebond clinique et biologique de l'hépatite B à son arrêt brutal non relayé par un autre traitement (6,7,55).

L'usage de la Lamivudine en monothérapie doit être remis en question chez les patients co-infectés.

➤ **L'adéfovir dipivoxil (ADV) (Hepsera®)**

10mg/jour, associé à la Lamivudine ; recommandé après échec ou intolérance de la **3TC**. Possède une efficacité comparable à la **3TC** mais est associé à une moindre sélection de virus résistants (incidence inférieure à 2% par année de traitement). Il est actif in vitro sur le VHB et sur les souches résistantes à la Lamivudine. L'adéfovir est pris par voie orale à la dose de 10 mg /jour pendant au moins 42 semaines (7).

➤ **Ténofovir dipivoxil fumarate (TDF) (Viread®)**

Importante activité in vitro contre le VHB sauvage et le mutant (YMDD) résistant à la Lamivudine, évaluation en cours (7,62).

**b- Stratégies :**

La Lamivudine et le Ténofovir ayant une activité anti-VIH, les stratégies thérapeutiques chez les patients co-infectés doivent prendre en compte les deux virus (VIH-1et VIH-2).

## **II- 3 Début du traitement :**

En phase chronique, une infection active à VHB est caractérisée avant traitement par :

Une charge virale détectable,

Un antigène HBs détectable,

Un antigène HBe détectable (pour les porteurs d'un virus non muté).

Chez les co-infectés, ces paramètres ci-dessus sont fluctuantes et il est donc nécessaire de faire plusieurs mesures dans le temps. En particulier la charge virale, si elle est faible, peut se négativer et se positiver spontanément, même chez les mono-infectés.

La décision de traiter doit prendre en compte les paramètres suivants :

Bilan hépatique,

État du foie,

Charge virale VHB.

Les recommandations du consensus ont consisté à opérer sur les paramètres des mono-infectés : La décision de traiter devrait se baser sur la charge virale HBV : au-dessus de 20000 UI/ml pour les patients HBe+ et au-dessus de 2000 UI/ml pour les patients HBe- (1UI= 5 copies). La décision de traiter doit être réservée aux hépatites actives et évolutives : la fibrose et l'inflammation du foie seront évaluées par biopsie ou par des tests similaires (Fibrotest®, Fibroscan®) et le traitement initié si les scores Metavir\* sont au moins de A2 (inflammation modérée) et F2 (fibrose légère). Avant tout choix de traitement, on doit diagnostiquer une présence éventuelle de cirrhose (qui exclurait le recours à l'interféron, dangereux dans ce contexte). NB : d'autres experts n'excluent pas le recours à l'interféron dans le contexte d'une mono-infection et d'une cirrhose, pourvu qu'elle ne soit pas trop avancée (cirrhose compensée). Les risques à mettre sous interféron une personne cirrhotique et immunodéprimée ne sont pas connus à ce jour (44).

## **II- 4 Le choix du premier traitement :**

Pour les patients ayant plus de 500 CD4/mm<sup>3</sup> mais devant traiter leur hépatite, il n'est pas souhaitable d'entamer une trithérapie anti-VIH. L'interféron est alors une option. L'interféron pégylé est recommandé. Pour le PEG-interféron 2a, on injectera en sous-cutané une dose de 180 microgrammes une fois par semaine pendant un an. À l'issue du traitement, on vise une séroconversion HBe durable (après arrêt du traitement), pour les patients HBe+ et une suppression durable de la charge virale avec normalisation des transaminases chez les patients Ag HBe. Chez les patients avec plus de 500 CD4 ne pouvant pas recevoir d'interféron (cirrhose, non-réponse, intolérance), il faudrait disposer d'une thérapie n'ayant aucune efficacité anti-VIH, si on ne veut pas risquer l'émergence de résistances du VIH, compromettant le traitement ultérieur de cette infection. Malheureusement il n'y en pas actuellement, tous les antiviraux actifs contre le VHB étant des inhibiteurs de la transcriptase inverse, une enzyme que le VIH possède aussi sous une forme très voisine. Et en effet, la lamivudine, l'emtricitabine, le tenofovir ont une efficacité contre le VIH ce qui nous obligent à les utiliser dans le cadre d'une trithérapie anti-VIH. Si le traitement anti-VIH est entrepris alors que les CD4 sont inférieurs à 200/mm<sup>3</sup>, (44). Un risque de réactivation de l'atteinte hépatique liée à la remontée de l'immunité peut avoir des conséquences graves sur le foie (parfois fatales) en présence de cirrhose. Si la charge virale HBV est élevée, on pourrait diminuer le risque de réactivation en abaissant cette charge virale par un traitement d'induction avant la mise en place du traitement anti-VIH. Pour les patients co-infectés avec une résistance du HBV à la lamivudine, on ajoutera le tenofovir au traitement anti-VIH en cours si celui-ci contrôle le virus, et dans le cas contraire, on pourra choisir un nouveau traitement qui contient du ténofovir (44).

## **II- 5 Surveillance pendant le traitement (82)**

Pour suivre l'efficacité du traitement, plusieurs paramètres sont utiles. Tout d'abord, il faut doser les transaminases, chaque mois au début du traitement, puis tous les trois mois. La mesure de la charge virale est plus précise, peut être faite tous les trois mois, ou élevé en cas de cirrhose. Lorsqu'il s'agit d'une hépatite chronique à l'AgHBe positif, il serait important de repérer une éventuelle séroconversion. C'est pourquoi il est conseillé de faire la recherche de cet antigène, ainsi que de l'anticorps anti-HBe.

Lorsque l'ADN viral a fortement diminué dans un second temps, et que l'ADN du VHB et l'antigène HBe sont négatifs, il faut de la même manière surveiller une possible séroconversion.

Le suivi des effets indésirables concerne surtout l'IFN : prises de sang régulières (NFS, TSH, etc.). Enfin, l'apparition d'une souche résistance se traduira par une nouvelle augmentation de la charge virale. Après l'arrêt d'un traitement, la surveillance des marqueurs biologiques et virologiques doit être poursuivie en raison du risque de réactivation virale (82).

Il n'existe pas une réponse clinique satisfaisante lors du traitement immunologique de l'hépatite B, mais plusieurs types de réponses, correspondant à des stades successifs :

\* 1<sup>er</sup> temps, la charge virale diminue et, si tout va bien, passe en dessous du seuil des 100 000 copies par ml. Cette réponse virologique est accompagnée ou suivie d'une normalisation des transaminases et d'une diminution de l'activité de l'hépatite, voire du score de fibrose. A ce stade, le risque de réactivation persiste ;

\* 2<sup>ème</sup> temps, la séroconversion HBe se produit et le risque de réactivation devient faible. Ce type de réponse est en général pris en compte dans les essais pour évaluer l'efficacité des traitements ;

\* 3<sup>ème</sup> temps, l'AgHBs peut se négativer, ce qui correspond à la guérison de l'hépatite chronique B sans risque de réactivation. Ce type de réponse est plus rare, souvent tardive, survenant après l'arrêt du traitement. Par ailleurs, comme dans l'hépatite C, une importante diminution de la charge virale au tout début du traitement est prédictive d'une meilleure réponse ultérieure.

## **II- 6 Arrêt du traitement :**

Avec les antiviraux, la question de l'arrêt du traitement se pose chez les monoinfectés. Chez les co-infectés, si le traitement anti-VHB est prescrit dans le contexte d'une cirrhose, son arrêt peut être dangereux en cas de rebond viral. Il peut aussi faire partie d'une multi thérapie anti-VIH : dans tous les cas, le consensus recommande d'éviter l'arrêt des traitements anti-VHB chez les co-infectés.



## *IV-MATERIELS et METHODES*

### **1- lieu d'étude :**

Notre étude a été réalisée au Centre National de Transfusion Sanguine et au Service des maladies infectieuses du CHU du Point-G à Bamako. Le CNTS a servi de traitement des échantillons de sang collectés.

#### **a) Le Centre National de Transfusion Sanguine (CNTS) :**

Centre de référence pour la collecte et la dispensation des produits sanguins et apparentés.

- La création et la mission du CNTS :

Le CNTS a été créé par l'ordonnance N°90-38/P-RM du 5 juin 1990.

l'ordonnance 041/P-RM du 20 septembre 2000 lui confère le statut d'établissement Public à caractère Scientifique, Technologique et Culturel (EPSTC) et le décret N°587/P-RM du 23 Novembre 2000 régleme son fonctionnement.

- La situation géographique :

Le CNTS est situé en commune II du district de Bamako, à Quinzambougou sur la rue ACHKABAD.

Il est contigu au CFTQ (Centre de formation Technique de Quinzambougou) sur la voie qui mène au commissariat du 3<sup>ème</sup> arrondissement de Bamako.

Le personnel : il se compose de

- 4 Médecins dont un est responsable du laboratoire et les 3 autres sont chargés de la collecte du sang et du suivi clinique des donneurs de sang.

- 4 pharmaciens dont l'un est chargé de la formation, de la recherche et de l'assurance qualité et les 3 autres du contrôle et de la distribution des poches de sang ;

-5 assistants médicaux

-6 techniciens supérieurs de santé

-5 techniciens de santé

-4 comptables

-3 secrétaires de direction

-1 réceptionniste téléphonique

-1 agent de saisie

-1 cuisinière

-1 manœuvre

-1 gardien

- 4 chauffeurs

Ce personnel est coiffé par un directeur qui est chargé de diriger, coordonner, animer et contrôler les activités du centre.

Par ailleurs le CNTS est doté d'un service de séro-immunologie avec deux chaînes complètes d'ELISA où s'effectuent tous les tests de dépistage, d'évaluation et de recherche concernant le VIH-SIDA, l'AgHBS, et les Anticorps anti-HCV qui entrent dans les composantes de la sécurité transfusionnelle.

Le local du CNTS est un bâtiment comportant un bloc administratif, un bloc pour le laboratoire (groupage, sérologie, hématologie-biochimie), et un bloc pour le prélèvement de sang. Le centre dispose également d'une chambre froide, d'un magasin de stockage des matériels et consommables, d'une salle de garde et de deux salles de consultations et de suivi des donneurs et enfin d'une salle de restauration pour les donneurs bénévoles et réguliers de sang. Le CNTS possède un incinérateur de déchets biomédicaux et un groupe électrogène.

Les activités du CNTS sont :

- La collecte de sang ;
- La sensibilisation de la population au don de sang volontaire ;
- Les analyses de sécurité transfusionnelle afin de valider les produits sanguins selon les normes de l'OMS;
- Les analyses variées de biologie clinique ;
- Fractionnement, conservation et distribution des produits sanguins ;
- La formation initiale et continue des stagiaires de la FMPOS et des écoles de formation de santé dans le domaine de la transfusion sanguine ;
- La mise en œuvre des projets de recherche par l'encadrement des étudiants en année de thèse.
- La formation continue en transfusion sanguine.

Le don de sang est un geste significatif effectué par deux groupes de personnes: le premier est constitué par des donneurs bénévoles et réguliers et le second par des donneurs occasionnels. Après l'enregistrement dans le registre ils passent tous au niveau des médecins du service pour la prise de la tension artérielle tout en subissant un interrogatoire. Après ce entretien avec le médecin, ils passent dans la salle de prélèvement pour le don proprement dit.

**IL est à noter que les activités de prélèvement et de distribution des produits sanguins se déroulent 24heures sur 24, tous les jours de la semaine. D'après la base de donnée du département de la collecte du CNTS, en 2005 - 2006 il a été enregistré :**

**En cabine fixe 20380 dons soit 94%**

**En cabine mobile 1301 dons soit 6%**

**Le nombre de dons volontaires était de 6187 (28,54%), celui des dons de compensation et occasionnel représentait 15494 (71,46%). Au total 21681 donneurs. Les hommes étaient plus représentés 17884 (82,49%) et les femmes 3797 (17,51%).**

**b) Le service des maladies infectieuses :**

Elle est située au sein du centre hospitalo-universitaire du Point-G (CHU). Hôpital de 3<sup>ème</sup> niveau de la pyramide sanitaire du Mali. Le service est constitué de 16 lits d'hospitalisation pour 5 salles, 3 médecins dont 2 spécialistes en maladies infectieuses et un généraliste en formation, 4 infirmières, 2 aides soignantes, ainsi que 4 garçons de salles.

**2- Période et type d'étude :**

Notre étude est une enquête, prospective et transversale. Elle porte sur l'ensemble des donneurs de sang porteurs de l'antigène HBs+ et du VIH/SIDA, du 1<sup>er</sup> Février 2006 au 1<sup>er</sup> Octobre 2006, au CNTS et les malades du VIH/SIDA hospitalisés au Service des maladies infectieuses du CHU de Point-G à Bamako.

**3- Population d'étude :**

Notre population d'étude était constituée de donneurs bénévoles de sang admis au Centre National de Transfusion Sanguine et des malades hospitalisés au service des maladies infectieuses du CHU du Point-G à Bamako. Pour réaliser l'analyse des marqueurs, nous avons répartie notre population d'étude en trois groupes :

31 patients portant AgHBs+/VIH-

31 patients portant AgHBs+/VIH+/SIDA-

31 patients portant AgHBs+/VIH+/SIDA+

**4- Les critères :**

**a) critères d'inclusion :**

- Etre hospitalisé au service des maladies infectieuses ou être donneur volontaire de sang du CNTS.
- Etre porteur de l'antigène de surface de l'hépatite B ou du VIH.
- Avoir donné son consentement éclairé.

**b) critères de non inclusion :**

Tous les porteurs de l'AgHBs- durant la période d'étude ; ainsi que les cas de transfères. De plus n'étaient pas inclus dans cette étude tous les donneurs ayant refusés de donner leur consentement éclairé et ceux jugés inaptes au don de sang par le médecin de collecte. Il s'agissait en majorité des femmes en période de règles, de grossesse ou d'allaitement, des personnes âgées de moins de 18 ans ou de plus de 60 ans au moment du don, des personnes hypertendus (ayant un H.T.A), des diabétiques, des personnes souffrant de maladies héréditaires ou qui sont sous certains traitements médicamenteux.

**5- Echantillonnage :**

L'échantillonnage était effectué de façon exhaustive. Il s'agissait de recruter tous les patients et les donneurs de sang répondant au critère de sélection. Nos résultats étaient soumis aux tests statistiques de signification, qui est le  $X^2$  avec P. Le test de Fisher était utilisé lorsque les effectifs attendus seront inférieurs à 5. La saisie et l'analyse des données a été faite par le logiciel SPSS Version 12.0.

**6- Variables mesurées :**

- Variables socio-démographiques que sont : âge, sexe, situation matrimoniale, et la profession.
- Variables biologiques :
  - taux sérique des antigènes HBs et HBe
  - taux sérique des anticorps anti-HBs, anti-HBe, et anti-HBc
  - Dénombrement des CD4
- Variables cliniques : les signes majeurs et mineurs du VIH

**7- Méthodes :**

L'ensemble des patients ont été soumis à un interrogatoire anamnestique, comportant des données socio-démographiques et biologiques. Les examens biologiques réalisés étaient :

La sérologie VHB d'une part a porté sur la recherche des antigènes AgHBs et AgHBe puis la recherche des anticorps spécifiques que sont :

Ac anti-HBs (IgM et IgG), DO

Ac anti-HBe (IgM et IgG), DO

Ac anti-HBc (IgM et IgG), DO

D'autre part la sérologie HIV, par les tests de dépistage que sont : Le test d'ELISA = GENSCREEN, VIH 1/2 version 2. De Plus un second test rapide qui permet d'identifier le type sérologique du virus en cause est utilisé appelé ImmunoComb II Bispot (VIH-1 ou VIH-2, VIH 1+2).

La confidentialité des résultats était assurée par le codage des prélèvements effectués chez les malades.

## **7-1 Matériels :**

### **7-1-1 matériels de prélèvement :**

- \_ Gants
- \_ Alcool et coton
- \_ Aiguilles stériles et étiquettes
- \_ Garot et pansements ;
- \_ Tubes stériles et étiquettes (tubes à étiqueter avant tout prélèvement)

### **7-1-2 matériels et réactifs :**

- \_ Marqueur
- \_ Stylo
- \_ Fiche de paillasse
- \_ Papier absorbant
- \_ Eprouvettes graduées de 10-20-1000 $\mu$ L
- \_ Pipette de 100-1000 $\mu$ L
- \_ Embouts
- \_ Pipette multi canal
- \_ Agitateur et système de lavage automatique, un incubateur sec des microplaques

- \_Des conteneurs de déchets contaminants
- \_Centrifugeuse
- \_Spectrophotomètre (PR 2100)
- \_Trousse de réactifs MUREX AgHBs
- \_Trousse de réactifs GENSCREEN, HIV ½ Version 2 de BIO-RAD
- \_Trousse de réactifs MONOLISA® Anti-HBs 3.0
- \_Trousse de réactifs MONOLISA® Anti-HBe
- \_Trousse de réactifs MONOLISA® Anti- HBc plus
- \_Trousse de réactifs ImmunoComb II Bispot.

## 7-2 Les techniques d'analyses :

### 7-2-1 Préparation des échantillons à analyser :

Le sang prélevé sur tube sec ou avec anticoagulant était centrifugé à 1500 t/mn pendant 10mn. Le sérum ou le plasma était collecté dans un tube stérile pour les analyses (**fig 2**).



**fig2 : Portoir métallique contenant des échantillons de sang prélevés.**

Nous commençons dans un premier temps par faire les analyses sérologiques de dépistage des infections à VHB et VIH puis dans un second temps nous procédions à la recherche des différents marqueurs du VHB. Les réactifs utilisés étaient:

Murex AgHBs Version 3, Monolisa® anti-HBs 3.0, Monolisa® anti-HBe, Monolisa® anti-HBc plus.

### **7-2-2 Dépistage de l'AgHBs :**

Le test de Kit contenant une plaque de 96 puits ; Réf : 72313.0

C'est une technique immuno-enzymatique de type «Sandwich» en un temps, utilisant trois anticorps monoclonaux sélectionnés pour leur capacité à se lier aux différents sous types de l'AgHBs, actuellement reconnus par l'OMS. La phase solide est constituée de 12 barrettes de 8 cupules en polystyrène sensibilisées avec un premier anticorps monoclonal. Les deux autres anticorps monoclonaux sont couplés à la peroxydase.

#### **Matériels et réactifs :**

- Les réactifs et matériels utilisés étaient les suivants:
- Micropipettes de 50µl et 100µl
- Pipette multicanaux (12 canaux) de 300µl
- Eprouvettes graduées de 25ml, 100ml et 1000ml
- Conteneurs de déchets contaminés
- Bac à obscurité
- Papier absorbant
- Bac de distribution de réactif
- Embouts jaunes et bleus
- Minuteur
- Marqueur et feuilles de paille
- Incubateur de microplaque à 37°C
- Appareil de lavage automatique
- Spectrophotomètre PR 3100 (BIO-RAD France)
- Spectrophotomètre TECAM de Murex
- Imprimante
- Centrifugeuse
- Eau distillée
- Eau de Javel

#### **❖ Kit de réactifs Murex®AgHBs V3**

### **Composition du Kit :**

- Microplaque de 12 barrettes de 8 puits sensibilisés avec un anticorps monoclonal anti-HBs murin de type IgG2b (R1)
- Solution de lavage concentrée 10x étiquetée (R2)
- Solution de contrôle négatif (humain) étiquetée (R3)
- Solution de contrôle positif (humain) étiquetée (R4)
- Le diluant pour les échantillons (R5)
- Diluant des conjugués, étiquetés (R6)
- Conjugué (anticorps monoclonaux anti-HBs couplés à la peroxydase, étiquetée (R7)
- Tampon substrat de la peroxydase solution d'acide citrique et d'acétate de Sodium à pH 4 étiquetée (R8)
- Substrat chromogène : solution contenant de la tetraméthyl benzidine, étiquetée (R9) ;
- Solution d'arrêt : solution d'acide sulfurique 1N, étiquetée (R10).
- Feuilles adhésives pour microplaque (R11)
- Le(s) sachet(s) minigrip pour la conservation des barrettes inutilisées (R12)

### **7-2-3 Principe :**

Le Murex AgHBs V3 est un test ELISA. Son principe est basé sur la capture de l'antigène de la surface du virus de l'hépatite B contenu dans le sérum, à l'aide d'un anticorps monoclonal fixé sur un support solide. Un second anticorps monoclonal est utilisé pour reconnaître l'antigène capturé puis un 3<sup>ème</sup> anticorps couplé à la peroxydase permet de détecter le complexe antigène anticorps formé. L'ensemble est ensuite révélé par l'ajout du substrat de l'enzyme qui, hydrolysé conduit à l'apparition d'une coloration dont l'intensité mesurée par un densitomètre optique ou l'absorbance est proportionnelle à la quantité d'antigène présent dans le sérum.

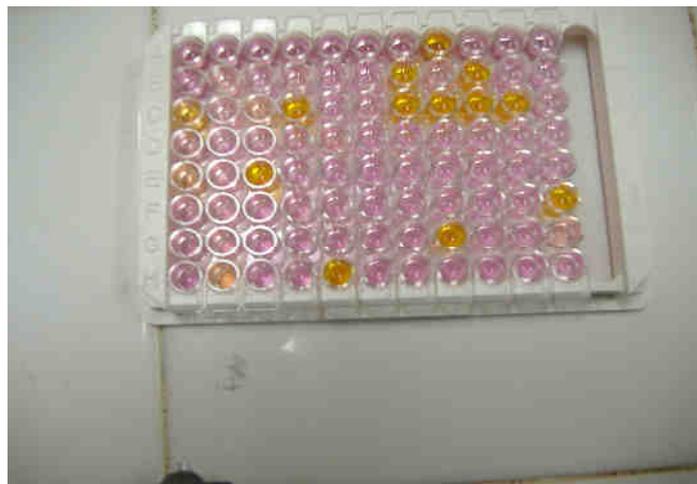
### **7-2-4 Mode opératoire :**

Utiliser les sérums de contrôles négatif et positif pour valider la qualité du test.

- Etablir le plan de distribution et d'identification des échantillons
- Préparer la solution de lavage dilué (R2)
- Préparer la solution de conjuguer (R6 + R7)
- Sortir le cadre support et les barrettes (R1) de l'emballage protecteur ;

- Distribuer dans les cupules et dans l'ordre suivant
  - 100µl de contrôle négatif (R3) dans les cupules A1, B1, C1 et D1
  - 100µl de contrôle positif (R4) dans la cupule E1
  - 100µl du 1<sup>er</sup> échantillon à tester dans la cupule F1
  - 100µl du 2<sup>ème</sup> échantillon en G1, H1 etc....

NB : à ce stade la bonne distribution des échantillons peut être vérifiée de façon visuelle en observant les niveaux des cupules.



**fig 3: Microplaque contenant des échantillons positifs de coloration jaune or par l'acide sulfurique (Solution d'arrêt).**

- 50µl du conjugué (R6+R7) dans chaque cupule à l'aide de pipette multicanaux puis homogénéiser et mélanger dans chaque puits à l'aide de la pipette. Vérifier la bonne distribution des échantillons et du diluant par l'observation d'une coloration rouge.

- Couvrir les puits d'un film autocollant
- Incuber la plaque dans l'incubateur sec pendant 60 mn à 37°C
- Retirer le film adhésif et laver la plaque à l'aide du laveur automatique (programme de lavage = aspiration de 100µl, suivi de 5 cycles d'injection/aspiration de 300µl de solution de lavage)
- Essorer en tapotant la plaque renversée sur une feuille "d'essuie tout "
- Distribuer rapidement dans chaque puits 100µl de solution de révélation préalablement préparée (substrat = mélange de R8 et de R9)
- Placer la plaque dans une boîte hermétique et laisser incuber à l'obscurité pendant 30 mn à la température du laboratoire

- Distribuer dans chaque puits 100µl de la solution d'arrêt (R10) en adoptant la même séquence et le même rythme de distribution que pour la solution de révélation
- Essuyer soigneusement le dessous de la plaque avec un essuie tout
- Lire la densité optique des puits à l'aide du spectrophotomètre à 450nm dans les 30 mn qui suivent l'arrêt de la réaction.

NB : à chaque pipetage changer d'embout d'un sérum à l'autre.

### **7-2-5 Expression et interprétation des résultats :**

La présence ou l'absence des antigènes HBs est déterminée en comparant pour chaque échantillon l'absorbance enregistrée à celle de la valeur seuil calculée.

Calcul de la moyenne des absorbances pour les contrôles négatifs (DOR3)

$$\text{DOR3} = [\text{DO (A1)} + \text{DO (B1)} + \text{DO (C1)} + \text{DO (D1)}] / 4$$

Calcul de la valeur seuil

$$\text{VS} = \text{DOR3} + 0,040$$

Validation de l'essai et interprétation des résultats :

La moyenne des sérums de contrôle négatif doit être inférieure à 0,80 unité de DO.

Les échantillons dont les densités optiques sont inférieures à la valeur seuil sont considérés comme négatifs et ceux dont les DO sont supérieurs à la valeur seuil sont considérés comme positifs.

Les échantillons dont les DO sont autour de la valeur seuil doivent être testés à nouveau.

### **❖ Kit de réactif Monolisa® anti-HBs 3.0**

#### **Composition du kit :**

- Microplaques : 12 barrettes de 8 cupules sensibilisées par un mélange d'antigènes de surface du virus de l'hépatite B, sous type ad et ay d'origine humaine (R1).
- Solution de lavage : (concentrée 10 fois) Tampon Tris, NaCl, pH : 7,4 (R2).
- Contrôle négatif : (Diluant échantillon sérique). Tampon PBS PHS pH : 7,4 additionné de sérum albumine bovine et de sérum de veau foetal (R3).
- Standaard positif : Tampon PBS, pH 7,4 ; additionné de sérum albumine bovine, et de sérum de veau foetal. (R4).

- Conjugué biotine AgHBs : Mélange d'antigènes de surface du virus de l'hépatite B, sous-type ad et ay d'origine humaine marqués par la biotine ,et en solution dans du tampon Tris, NaCl, PH 7,4 (R5).
- Conjugué Streptavidine-peroxydase : Streptavidine couplée à la peroxydase ; en solution dans du Tampon Tris, NaCl, pH 7,4 (R6).
- Tampon substrat de peroxydase : Solution d'acide citrique et d'acétate de sodium pH 4,0 contenant 0,015% d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et 4% de diméthylsulfoxyde (DMSO). (R8)
- Chromogène : Solution contenant du tétraméthyl benzidine (TMB). (R9)
- Solution d'arrêt : Solution d'acide sulfurique 1N (R10)
- Film adhésif

### **Principe du test :**

Monolisa Anti-HBs 3.0 utilise une technique immuno-ensymatique de type " Sandwich" en deux temps utilisant un mélange d'AgHBs de sous type ad et de sous type ay d'origine humaine. La phase solide est constituée de barrettes de 8 cupules de polystyrène sensibilisées avec le mélange d'AgHBs purifié.

Le mélange de conjuguer (AgHBs marqués à la biotine et la Streptavidine couplée à la peroxydase) utilise l'effet amplificateur du système SYREPTAVIDINE-BIOTINE.

Le dosage comprend les étapes réactionnelles suivantes :

- 1) Incubation de sérum de contrôle, des échantillons en présence du mélange d'AgHBs immobilisé sur la phase solide.
- 2) Lavage puis incubation avec le mélange d'AgHBs biotiné et v conjugué Streptavidine-peroxydase.
- 3) Lavage puis révélation de l'activité enzymatique liée à la phase solide par addition du substrat.
- 4) Arrêt de la révélation puis lecture des densités optiques à 450/620-700 nm et interprétation des résultats.

### **Mode opératoire :**

Utiliser les sérums de contrôles négatif et positif à chaque mise en œuvre du test pour valider la qualité du test.

- Etablir le plan de distribution et d'identification des échantillons (schéma de plaque)
- Préparer la solution de lavage R2

- Sortir de l'emballage protecteur le cadre support et le nombre de barrettes nécessaires R1. Remettre les barrettes non utilisées dans l'emballage et refermer avec soin.
- Déposer directement, sans pré-lavage de la plaque en fonction du mode d'utilisation choisi, les réactifs suivants :

**Pour le dépistage :**

- 100 µl de contrôle négatif R3
- 100 µl de standard positif R4
- 100 µl d'échantillon non dilué

Pour la sélection des plasmas

- 100µl de contrôle négatif R3
- 100 µl de standard positif R4
- 100µl d'échantillon à la dilution appropriée dans le réactif R3

Pour le dosage quantitatif

- 100µl de contrôle négatif R3
- 100µl d'étalon 10mUI/ml.....Cupule D1
- 100µl d'étalon 50mUI/ml.....Cupule E1
- 100µl d'étalon 100mUI/ml.....Cupule F1
- 100µl d'étalon 150 mUI/ml.....Cupule G1
- 100 µl du premier échantillon non dilué.....Cupule H1
- 100µl du premier échantillon dilué 1/10.....Cupule A2

- Recouvrir d'un film adhésif, laisser incuber  $60 \pm 5$  mn à  $37^\circ\text{C}$  ou  $40 \pm 1^\circ\text{C}$
- Préparer la solution du conjugué (R5 + R6)
- Retirer le film adhésif, vider par aspiration le contenu de chaque cupule dans le conteneur de déchets, puis laver 4 fois.
- Si le nombre de détermination est inférieur à 16, ajouter 50µl de réactif R5 et 50 µl réactif R6 dans chaque cupule ; sinon, distribuer 100µl du mélange R5+ R6 (voir chapitre 6).
- Recouvrir d'un film adhésif, vide par aspiration le contenu de chaque cupule dans le conteneur de déchets, puis laver 5 fois.
- Préparer la solution de révélation enzymatique (R8 + R9)
- Distribuer rapidement, à l'abri de la lumière vive ,100µl de la solution de révélation de l'activité enzymatique (R8 + R9) dans toutes les cupules. Laisser

la révélation se développer dans l'obscurité pendant  $30 \pm 5$  minutes à la température ambiante (18 à 30°C).

Lors de cette incubation, on ne doit pas utiliser de film adhésif

- Ajouter 100µL de la solution d'arrêt (R10) dans chaque cupule.
- Essuyer soigneusement le dessus de la plaque et lire la densité à 450/620-700 nm, dans les 30 mn qui suivent l'arrêt la réaction.

### - Calcul et mode interprétation des résultats :

1. En fonction du mode d'utilisation, calculez les densités optiques moyennes enregistrées sur :

a) Contrôle négatif R3

Exemple : Contrôle négatif R3

	DO
1	0.031
2	0.040
3	0.037

Total DO /3 =  $0.108/3 = 0.036 =$

-----  
DO R3

b) Standard positif R4

Exemple : Standard positif R4

	DO
1	0.925
2	0.961

Total DO/2 =  $1.886/2 = 0.943 = 0.943 =$

-----  
DO R4

2. Calculer la valeur seuil

La valeur seuil est égale à DO R3 + 0.075

Exemple : DO R3 = 0.036

Valeur Seuil :  $0.036 + 0.075 = 0.111$

### - Interprétation des résultats :

#### 1) Dépistage

Les échantillons dont la densité optique est inférieure ou égale à la valeur seuil sont négatifs.

Les échantillons dont la densité est supérieure à la valeur seuil sont positifs.

Les échantillons avec un faible ratio (D.O échantillon/ D.O valeur seuil) compris entre 1 et 2 doivent être interprétés avec prudence.

## **2) Sélection des plasmas**

Les plasmas, dont la dilution appropriée donne une DO supérieure ou égale à celle du contrôle positif R4 seront sélectionnés.

## **3) Dosage quantitatif**

Les échantillons dosés purs, présentant une DO inférieure ou égale à la valeur seuil seront considérés négatifs. Pour les échantillons (dosés purs ou dilués au 1/10<sup>e</sup>) présentant une DO comprise entre la valeur seuil et l'étalon 150 mUI/ml la concentration en anti-HBs sera déterminée. Les résultats basses de valeurs (< 15 mUI/ml) devront être interprétés avec précaution.

### **- Limites de la Méthode**

En raison de la variabilité des réponses immunologiques d'un individu à un autre après une infection par le virus de l'hépatite B suite à une vaccination ou à une injection d'immunoglobulines thérapeutiques, il est recommandé d'interpréter avec précaution les résultats de basse valeur.

## **❖ Le Kit du réactif Monolisa® HBe :**

### **Composition du Kit :**

- 12 Barrettes de 8 cupules sensibilisées avec des anticorps anti-HBe humains provenant de sérum positif en AgHBs, inactivé(R1)

- Solution de lavage concentrée 10 fois (R2)

Tampon Tris-NaCl pH 7,4

- Contrôle négatif (commun aux tests AgHBe/Anti-HBe)

- Sérum humain négatif en anticorps anti-HIV1 et anti-HIV2, en antigène HBs et Anti HCV (R3)

- Contrôle positif (R4)

Plasma humain défibriné positif en AgHBs, négatif en anticorps anti-HIV1 et anti-HIV2 et en anticorps anti-HCV, inactivé.

- Contrôle positif Test AG HBe (R5)

Plasma humain défibriné positif en AgHBe et en AgHBs, négatif en anticorps anti-HV11, anti-HIV2 et en anticorps anti-HCV, inactivé.

- Antigène de neutralisation (R6)

Plasma humain défibriné positif en AgHBe et AgHBe et en AgHBs, négatif en anticorps anti-HIV1, anti-HIV2 et en anticorps anti-HCV, inactivé.

- Conjugué test Anti-HBe, concentré 5fois (R7a)

2 anticorps monoclonaux murins (Acm1 et Acm2)

Anti-HBe couplé à la peroxydase.

- Conjugué test AgHBe, concentré 5fois (R7b)

2 anticorps monoclonaux murins (Acm1 et Acm2), Anti-HBe couplés à la peroxydase.

- Tampon substrat de la peroxydase (R8)

Tampon citrate contenant 0,003% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

- Chromogène (R9)

Comprimés D4OPD : O-phénylène-Diamine 2HCL dosés à 30 mg.

- Chromogène (R9)

Solution d'acide sulfurique 4N, Film adhésif pour microplaque

### **Principe du test :**

Repose sur la détection de l'antigène HBe et anticorps HBe.

#### **a) détection de l'AgHBe :**

Elle repose sur une technique immunoensymatique du type sandwich en deux temps, utilisant un anticorps anti-HBe humain et couple d'anticorps monoclonaux Anti-HBe marqué (Acm1 et Acm2) d'origine murine reconnaissant des épitopes différents .

#### **b) détection des anticorps anti-HBe**

La trousse utilise la même phase solide que pour l'AgHBe. Le test est basé sur la compétition entre l'anticorps insolubilisé et l'anticorps présent dans l'échantillon vis-à-vis d'une quantité limitée d'antigène HBe, d'origine plasmatique, utilisé comme réactif de neutralisation. La révélation se fait ensuite à l'aide d'un mélange du couple d'anticorps monoclonaux (Acm1 et Acm2) marqué à la peroxydase.

### **Mode opératoire :**

Les tests AgHBe et anti-HBe peuvent être réalisés sur la même plaque. Dans ce cas, nous conseillons de faire :

- Le test anti-HBe: sur les lignes A, B, C,
- Le test AgHBe: sur les lignes E, F, G, H

**a) protocole du test anti-HBe :**

1- Préparer la solution de lavage.

2- Sortir de l'emballage protecteur le cadre support, et le nombre de barrette nécessaire. Remettre les barrettes non utilisées dans l'emballage puis refermer.

3- Remplir toutes les cupules avec 0,4ml de solution de lavage une fois pleine puis sécher la plaque sur du papier absorbant par retournement. Si l'on dispose d'un laveur automatique, respecter le même cycle opératoire.

4- Distribuer dans les cupules successivement :

- A1, B1, C1 : 100 de contrôle négatif (R3)
- D1 : 100  $\mu$ L de contrôle positif (R4)
- E1, F1, G1 1000  $\mu$ L d'échantillon inconnu.

5- Ajouter rapidement 50 $\mu$ L d'antigène neutralisant (R6) par cupule

6- Recouvrir la plaque avec un film adhésif, laisser incuber 17 à 21 heures à la température ambiante (+18-30°C).

7- Préparer la solution de conjuguer (R7) a avant la fin de la première incubation

8- Retirer le film adhésif, vider par aspiration le contenu de chaque cupule dans le conteneur de déchets puis laver quatre fois comme à l'étape 3.

9- Distribuer rapidement 100 $\mu$ L de solution de conjuguée (R7a) par cupule. Couvrir la plaque avec un film adhésif, et laisser incuber 30 $\pm$  5 mn à 40 $\pm$  1°C.

10- Retirer le film adhésif, vider par aspiration le contenu de chaque cupule dans le conteneur de déchets, puis laver 5 fois comme à l'étape 3.

11- Préparer extemporanément la solution de révélation enzymatique (R8 +R9)

12- Distribuer rapidement 100 $\mu$ L de la solution de révélation par cupule et placer la plaque pendant 30mn dans l'obscurité et à la température ambiante (+ 18-30°C).

13- Ajouter rapidement 50 $\mu$ L de la solution d'arrêt (R10) dans chaque cupule.

14- Essuyer soigneusement le dessous de la plaque, et lire la densité optique à 492/620 nm, dans les 30 mn qui suivent l'arrêt de la réaction.



**fig4 : Spectrophotomètre pour lecture des plaques des densités optiques à 450/620-700 nm.**

**b) protocole du test AgHBe :**

1- Préparer la solution de lavage.

2- Sortir de l'emballage protecteur, le cadre support, et le nombre de barrette nécessaires, remettre les barrettes non utilisées dans l'emballage puis refermer.

3- Remplir toutes les cupules avec 0,4ml de solution de lavage une fois pleine, puis sécher la plaque sur du papier absorbant par retournement. On peut utiliser un laveur automatique à cette étape.

4- Distribuer dans les cupules successivement :

- A1, B1, C1 : 100 de contrôle négatif (R3)
- D1 : 100  $\mu$ L de contrôle positif (R4)
- E1, F1, G1 1000  $\mu$ L d'échantillon inconnu.

5- Recouvrir la plaque avec un film adhésif, et laisser incuber une nuit à la température ambiante (+ 18-30°C).

6- Préparer la solution de conjugué R7b avant la fin de la première incubation.

7- Retirer le film adhésif, vider par aspiration le contenu de chaque cupule dans le conteneur de déchets, puis laver quatre fois comme l'étape 3.

8- Distribuer rapidement 100 $\mu$ L de la solution de conjugué (R7b) par cupule. Couvrir la plaque avec un film adhésif et laisser incuber 30mn à 40  $\pm$  1°C.

9- Retirer le film, vider le conteneur de déchets puis laver cinq fois comme à l'étape 3.

10- Préparer extemporanément la solution enzymatique (R8 + R9)

11- Distribuer rapidement 100 µL de la solution de révélation par cupule et placer la plaque pendant 30 mn dans l'obscurité à la température ambiante (+18 -30°)

12- Ajouter rapidement 50µL de la solution d'arrêt (R10) dans chaque cupule.

13- Essuyer soigneusement le dessous de la plaque, et lire la densité optique à 492/620 nm, dans les 30 nm qui suivent l'arrêt de la réaction.

### **c- protocole des tests Anti-HBe et AgHBe sur la même plaque :**

Les protocoles sont identiques à ceux décrits précédemment. Seul la disposition est modifiée sur la plaque ; suivant le schéma est proposé.

#### **- Calculs et interprétation des résultats :**

##### **a) Test anti-HBe**

1) Calcul de la densité optique moyenne des contrôles négatifs : DO R3

Exemple :	Contrôle négatif R3	DO
	1	1,355
	2	1,314
	3	1,291

Total DO /3=3,930/3 =1,320=DO R3

Il est possible d'éliminer une valeur d'un contrôle négatif, lorsque sa DO s'écarte de plus de 25% de la moyenne, refaire alors le calcul de la moyenne sur les deux autres valeurs.

2) Calcul du pourcentage d'inhibition

La présence ou l'absence de l'anti-HBe est déterminée par le pourcentage d'inhibition calculé grâce à la formule suivante :

$$\% \text{ D'inhibition} = \frac{\text{DO R3} - \text{DO Ech}}{\text{DO R3}} \times 100$$

Exemple:

$$\text{DO R3} = 1,320$$

$$\text{DO R4} = 0,013$$

$$\text{DO Sample} = 0,034$$

$$\% \text{ inhibition} = \frac{1,320 - 0,034}{1,320} \times 100 = 99\%$$

1,320. 0,013

### 3) Validation du test anti HBe

DO R3 > 0,500

Et DO R4 < 0,030

Le seuil de positivité est placé à 60% d'inhibition.

Les échantillons sont considérés comme :

- Positifs si le % d'inhibition est  $\geq 60\%$
- Négatifs si le % d'inhibition est  $\leq 60\%$

Toutefois, quand le résultat est compris entre 55 et 60%, il est recommandé de retester l'échantillon en double afin de confirmer le résultat du test initial.

Il est conseillé de retester les échantillons positifs en double.

Pour les échantillons considérés initialement positifs ou douteux (% d'inhibition entre 55 et 60%), si après répétition de l'essai, le pourcentage d'inhibition est supérieur ou égal à 60% pour au moins un des 2 doublets, l'échantillon est considéré positif.

### b) Test AgHBe :

#### 1) Calcul de la densité optique moyenne des contrôles négatifs : DO R3

Exemple :	contrôle négatif R3	DO
	1	0,012
	2	0,011
	3	0,014

Total DO R3 =  $0,037/3 = 0,012 = \text{DO R3}$

Il est possible d'éliminer une valeur d'un contrôle négatif lorsque sa DO s'écarte de plus de 25% de la moyenne. Refaire alors le calcul de la moyenne sur les deux autres valeurs.

#### 2) Calcul de la valeur seuil

Pour chaque plaque, la valeur seuil est obtenue comme suite : Valeur seuil (VS) = DO R3 + 0,025

Exemple :

DO R3	= 0,012
Incrément	= 0,025
VS	= 0,012 + 0,025 = 0,037

### 3) Validation du test AgHBe

DO R3 < 0,030

DO R5 > 0,800

### 4) Calcul des ratios

Pour chaque échantillon, calculer le ratio :

$$\text{Ratio} = \frac{\text{DO échantillon}}{\text{VS}}$$

### 5) Interprétation des résultats

Tout échantillon dont le ratio est inférieur à 1, sera considéré comme négatif.

Tout échantillons dont le ratio est supérieur ou égale à 1 sera considéré comme positif.

Il est conseillé de retester les échantillons positifs en double. Si après répétition de l'essai, au moins une valeur des 2 doublets est positive, l'échantillon est considéré comme positif.

### ❖ Kit de réactif Monolisa® anti-HBc Plus

Monolisa anti-HBc Plus est un test immunoensymatique de type ELISA indirect permettant la détection simultanée des anticorps totaux (IgG et IgM) dirigés contre l'antigène du corps du virus de l'hépatite B dans le sérum ou le plasma humain.

Monolisa anti-HBc Plus repose sur l'utilisation d'une phase solide préparée avec de l'antigène HBc recombinant.

#### Composition du Kit :

-12 barrettes de 8 cupules sensibilisées avec de l'antigène HBc recombinant purifié (système d'expression : E-coli) : R1

- solution de lavage concentrée 10 fois

Tampon Tris Na Cl, Ph7, 4 contenant 1% de Tween20

- Contrôle négatif : sérum humain négatif en anticorps anti HBc : R3

- Contrôle humain contenant des anticorps antiHBc inactivés photochimiquement : R4

- Diluant pour échantillon : Tampon phosphate additionné du colorant témoins de dépôts échantillon (de couleur violette) : R6

- Conjugué : anticorps de chèvre anti IgM et anti IgG humaine marqué à la peroxydase (de couleur verte) : R7

- Tampon substrat de la peroxydase :

Solution d'acide citrique et d'acétate de sodium.

pH= 4,0 contenant 0,015% d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et 4% de diméthylsulfoxyde (DMSO) :R8

- Chromogène :

Solution contenant du tétraméthyl benzidine : R9

-Solution d'arrêt :

Solution d'acide sulfurique 1N :R10

### **- Mode opératoire :**

•Suivre strictement la procédure suivante :

- 1- Etablir soigneusement le plan de distribution et d'identification des échantillons.
- 2- Préparer la solution de lavage diluée.
- 3- Sortir le cadre support et les barrettes (R1) de l'emballage protecteur.
- 4- Déposer successivement sans pré-lavage de la plaque :
  - 4-1 200µL de diluant (R6) dans chaque cupule
  - 4-2 20µL de sérum du contrôle négatif (R3) en A1, B1.  
20µL de sérum du contrôle positif (R4) en C1, D1, E1.  
20µL du premier échantillon en F1, si cette cupule n'est pas utilisée comme cupule témoins pour la validation du dépôt des échantillons (voir note ci après).  
20µL du deuxième échantillon en G1, etc.

En fonction du système utilisé, il est possible de modifier la position des contrôles.

Homogénéiser le mélange soit par 3 aspiration minimum avec une pipette de 20µL, soit par agitation de la plaque en fin de distribution.

Il est possible également de distribuer 220µL des échantillons préalablement dilués au 1/11ème.

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

NB : après ajout de l'échantillon, le diluant vire du violet au bleu. Il est possible de vérifier par lecture(s) spectrophotométrique (s) à 620nm la présence des échantillons dans les cupules.

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

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

- Procédure 1 :  $30 \pm 5$  mn à  $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ .
- Procédure 2 :  $30 \pm 5$ mn à  $40^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$

7- Retirer le film adhésif. Aspirer le contenu de toutes les cupules et garder le dans un conteneur pour déchets contaminés et ajouter dans chacune d'elle un minimum de 0,370ml solution de lavage. Aspirer de nouveau. Répéter le lavage 3 fois (4 lavages).

Veillez à ce que le volume résiduel n'excède pas 10 $\mu\text{L}$  (éventuellement, sécher la plaque par retournement sur une feuille de papier absorbant).

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

8- Distribuer 200 $\mu\text{L}$  de la solution de conjugué dans toutes les cupules, le conjugué doit être agiter avant l'emploi.

NB : le conjugué est d'une coloration verte.

Il est possible de vérifier par la spectrophotométrie à 450nm la présence de conjuguer dans les cupules.

9- Recouvrir les cupules d'un film adhésif neuf et incuber pendant :

- Procédure 1 :  $60 \pm 5$  mn à  $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$
- Procédure 2 :  $60 \pm 5$  mn à  $40^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$

10- Retirer le film adhésif, vider les cupules par aspiration et laver 4 fois comme précédemment. Veillez à ce que le volume résiduel n'excède pas 10 $\mu\text{L}$ .

11- Préparer la solution de révélation (R8 + R9).

12- Distribuer rapidement dans toutes les cupules 100 $\mu\text{L}$  de la solution de révélation de l'activité enzymatique (R8 + R9) Préalablement préparée.

13- Ajouter 100 $\mu\text{L}$  de la solution d'arrêt (R10) en adoptant la même séquence et le même rythme de distribution que pour la solution de révélation. Homogénéiser le mélange réactionnel.

14- Essuyer soigneusement le dessous des plaques. Au moins 4mn après la distribution de la solution d'arrêt et dans les 30 minutes qui suivent l'arrêt de la réaction, lire la densité optique à 450/ 620-700nm à l'aide d'un lecteur de plaques.

15- S'assurer avant la transcription des résultats qu'il ya concordance entre la lecture spectrophotométrique et la lecture macroscopique des échantillons.

#### - Calcul d'interprétation des résultats :

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

1-Calcul de la moyenne des absorbances mesurées pour un sérum positif (DO R4)

Exemple : Contrôle positif R4

Densité optique	Position du contrôle
1,796	C1
1,802	D2
1,852	E1
5,450	total

$$\text{Moyenne DO R4} = \frac{\text{somme des densités optiques du R4}}{3} = \frac{5,450}{3} = 1,817$$

#### 2- Calcul de la valeur seuil (Vs)

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

Exemple : Moyenne DO R4 = 1,817

$$V_s = \frac{1,817}{5} = 0,363$$

**Les critères de validation sont les suivants :**

a) **pour le contrôle négatif** : chacune des valeurs de l'absorbance mesurée doit être inférieure à 0,100.

b) **Pour le contrôle positif** :

- chaque valeur des absorbances mesurées doit être supérieure ou égale à 1,000 et inférieure ou égale à 2,400.
- si une des valeurs individuelles du contrôle positif se situe en dehors des normes précédentes ou s'écarte de plus de 30% de la moyenne, refaire le calcul avec les deux valeurs de contrôle positif restantes. Le test est à recommencer si plus d'une valeur du contrôle positif est hors de l'intervalle des valeurs ci-dessus.

**- Interprétation des résultats :**

Les échantillons dont la densité optique est inférieure à la valeur seuil sont considérés négatifs d'après le test MONOLISA® anti- HBc plus.

Les échantillons dont la densité optique est supérieure ou égale à la valeur seuil sont considérés comme initialement positifs et doivent être retestés en double avant l'interprétation finale. Toutefois, les résultats situés juste au dessous de la valeur seuil ( $V_s - 10\% < DO$ ) doivent être interprétés avec prudence. Il est conseillé de retester en double les échantillons correspondants lorsque les procédures de laboratoire et les systèmes utilisés le permettent.

Après répétition de l'essai, l'échantillon est considéré positif d'après le test MONOLISA® anti-HBc plus si au moins une des deux mesures est positive, c'est-à-dire supérieure ou égale à la valeur seuil. L'échantillon est considéré négatif selon le test MONOLISA® anti-HBc plus si ces valeurs sont trouvées inférieures à la valeur seuil.

**8- Critères de diagnostic sérologique de l'infection à VIH :**

Le diagnostic sérologique de l'infection à VIH : Conformément aux recommandations de l'O.M.S, les différents tests de dépistage du VIH doivent se faire par deux tests utilisant deux principes antigéniques différents à défaut de la confirmation par le Western Blot. Le premier test a été fait par le test ELISA = GENSCREEN HIV1/2 Version 2.

Le deuxième test par le test rapide = ImmunoComb® II, test qui permet d'identifier en plus ; le type de virus en cause (VIH-1 ou VIH-2 ou VIH 1+2).

Le diagnostic de séropositivité est donc posé par :

- Genscreen positif
- ImmunoCombII positif en VIH-1 ou VIH-2 ou VIH 1+2.

## **9- Méthodes d'analyses :**

### **9-1 GENSCREEN® HIV ½ Version 2**

Pour la mise en évidence des virus du SIDA la technique utilisée fut la technique ELISA : (GENSCREEN HIV ½ Version 2).

#### **a) Principe :**

Genscreen HIV ½ Version 2 est une technique immuno-enzymatique basée sur le principe du sandwich en deux étapes pour la détection des différents anticorps associés aux virus VIH-1 et/ou VIH-2, dans le sérum ou le plasma humain. Genscreen HIV ½ repose sur l'utilisation d'une phase solide préparée avec les antigènes purifiés (protéines recombinants gp 160 et p25 du virus VIH-1 et peptide mimant l'épitope immunodominant de la glycoprotéine du virus VIH-2) et d'un conjugué préparé avec des antigènes marqués à la peroxydase (protéine recombinante nucléocapsidique et peptides mimant les épitopes immunodominants des glycoprotéines d'enveloppe des VIH-1 et VIH-2).

#### **b) La trousse GENSCREEN® HIV ½ Version 2 contient :**

- 12 barrettes de 8 cupules sensibilisées par les antigènes purifiés :R1

- Solution de lavage concentrée 10 fois : R2

Cette solution doit être diluée 10 fois dans l'eau distillée pour obtenir la solution de lavage près à l'emploi. On prévoit alors 800 ml de cette solution pour une plaque de 12 barrettes.

- Sérum humain négatif en anticorps anti-VIH 1 et anti-VIH 2, en antigène HBs et en anticorps HCV :R3

- Sérum de contrôle positif :R5

- Sérum humain positif en anticorps anti-VIH, négatif en AgHBs et en Ac VHC.

- Diluant pour échantillons prêt à l'emploi : C'est une solution de sérum de veau :R6

- Conjugué lyophilisé :R7a

- Ag VIH 1 et VIH 2 purifiés ; marqué à la peroxydase.

- Diluant du conjugué :R7b

- Solution de lait écrémé colorée.

-Tampon de substrat : R8

- Solution prête à l'emploi d'acide citrique et d'acétate de sodium PH 4,0 contenant 0,015% d'eau oxygénée et 4% de DMSO.

- Solution de chromogène concentrée :R9

Diluer 11/10 fois la solution dans le tampon substrat (Ex : 1ml de réactif 9 + 10 ml d'eau distillée)

- Solution d'acide sulfurique 1N prêt à l'emploi :R10

### **c) Mode opératoire :**

1. Etablir soigneusement le plan de distribution et d'identification des échantillons.

2. Préparer la solution de lavage diluée,

3. Sortir le cadre support et les barrettes (R1)

4. Déposer directement, et successivement sans prélavage de la plaque :

25µL de diluant dans chaque cupule

75 µL de (R3) en A1

75 µL de (R4) en B1, C1 et D1

75 µL de (R5) en E1

75µL du premier échantillon en F1

75 µL du deuxième échantillon en G1, etc....

Homogénéiser par 3 aspirations au minimum avec la pipette de 75 µL.

5. Couvrir la plaque d'un film autocollant en appuyant bien sur toute la surface.

6. Incuber la microplaque dans un incubateur sec de microplaques pendant  $30 \pm 5$  minutes à la température ambiante à 37°C.

7. Retirer le film adhésif. Aspirer le contenu de toutes les cupules et évacuer dans un conteneur pour déchets contaminés ; ajouter immédiatement 0,370 ml de solution de lavage.

Aspirer de nouveau. Répéter le lavage au moins 2 fois (Soit un minimum de 3 lavages au total). Le volume résiduel doit être inférieur à 10 µL.

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



**fig 5 : Laveuse automatique des microplaques d'échantillons**

8. Distribuer 100 $\mu$ L solution conjugué dans toutes les cupules.
9. Recouvrir les cupules d'un film adhésif neuf et incuber  $30 \pm 5$  minutes à la température ambiante (18- 30°C).
10. Recouvrir les cupules par le film adhésif, vider toutes les cupules par aspiration et laver au moins 5 fois comme précédemment.
11. Distribuer rapidement dans toutes les cupules 80  $\mu$ L de la solution de révélation de l'activité enzymatique (R8 + R9) préalablement préparée. Laisser la réaction se développer à l'obscurité pendant 30 minutes à la température ambiante (18-30°C).
12. Ajouter 100  $\mu$ L de la solution d'arrêt (R10) en adoptant la même séquence et le même rythme de distribution que la solution de révélation.
13. Essuyer soigneusement le dessous des plaques. Lire la densité optique à 450 / 620 nm à l'aide d'un lecteur de plaques, dans les 30 mn qui suivent l'arrêt de la réaction.



**fig 6: Spectrophotomètre contenant des échantillons positifs de couleur jaune au GENSCREEN HIV 1/2 Version 2**

14. S'assurer avant la transcription des résultats de concordance entre la lecture et le plan de distribution, et d'identification des échantillons.

**d) Interprétation des résultats :**

Les échantillons dont les absorbances sont inférieures à la valeur seuil sont considérés négatifs.

Les échantillons dont les absorbances sont égales ou supérieures à la valeur seuil sont considérés initialement positifs d'après le test GENSCREEN HIV 1/2 Version 2.

Toutefois, les résultats situés justes au dessous de la valeur seuil doivent être interprétés avec prudence et il est conseillé de tester la densité de nouveau ces échantillons.

**e) Limites :**

De très faibles taux d'anticorps peuvent ne pas être détectés lors d'infection récente, par conséquent un résultat négatif signifie que l'échantillon contrôlé ne contient pas d'anticorps détectables par le test GENSCREEN. La variabilité des virus VIH-1 (groupe M, groupe O) et VIH-2 ne permet pas d'exclure la possibilité de réactions faussement négatives. Aucune méthode connue pour l'instant ne peut offrir l'assurance que le virus est absent. Toute technique ELISA hautement sensible peut produire des réactions faussement positives. Afin de spécifier la réaction, tout

échantillon trouvé positif reproductible doit être soumis à un test de confirmation (Western blot par exemple).

## 9-2 ImmunoComb II HIV ½ Bispot :

### a) principe :

La trousse ImmunoComb® II VIH-1 et VIH-2 Bispot est un test immuno-enzymatique indirect en phase solide (EIA). La phase solide est un peigne de 12 dents, chaque dent étant sensibilisée à sa surface en trois points ou spots de réaction :

Spot supérieur : anticorps de chèvre anti-immunoglobulines humaines servant de contrôle interne ;

- Spot médian : peptides synthétiques VIH-2 ;
- Spot inférieur : peptides synthétiques VIH-1.

Tous les réactifs nécessaires à la réalisation du test sont prêts à l'emploi et distribués dans le bac de développement et qui est divisé en 6 compartiments (A-F) de douze puits chacun, chaque compartiment contient un réactif et constitue une étape de la réaction.

**Tableau III:** Résumé du mode opératoire

Etape	Compartiment	Opération
Réaction antigène-anticorps	A	Homogénéiser ; incubé 10 mn ; absorber
Lavage	B	Agiter ; incubé 2 mn ; absorber
Conjugué	C	Homogénéiser ; incubé 10mn ; absorber
Conjugué	D	Agiter ; incubé 2 mn ; Absorber
Lavage	E	Agiter ; incubé 2 mn ; Absorber
Révélation	F	Homogénéiser ; incubé 10mn
Réaction d'arrêt	E	Incuber 1mn ; sécher à l'air.

## **b) Résultats et validation :**

Pour confirmer le bon fonctionnement du test et valider les résultats, certaines conditions suivantes doivent être remplies :

- 1 le contrôle positif doit présenter 3 spots sur la dent
- 2 le contrôle négatif doit présenter le spot supérieur, spot de contrôle interne.
- 3 tout échantillon tester doit présenter le spot de contrôle interne confirmant un dépôt correct de l'échantillon.

Si une de ces conditions n'est pas remplie, les résultats ne peuvent être validés. Dans ce cas, échantillons et contrôles doivent être retestés.

## **c) lecture des résultats :**

Lorsqu'une dent affiche uniquement le spot supérieur de contrôle interne, l'échantillon correspondant n'est réactif pour les anticorps anti-VIH 1 et anti-VIH 2. Un spot médian circulaire et uniformément coloré indique la présence d'anticorps anti-VIH 2.

Un spot inférieur, circulaire et uniformément coloré, indique la présence d'anticorps anti-VIH1.

Certains échantillons contenant des concentrations élevées en anticorps anti-VIH 1 ou anti-VIH 2 peuvent occasionner des réactions croisées en affichant un spot faible associé à un spot principal plus intense correspondant à l'antigène homologue.

Tout résultat indiquant la présence d'anticorps anti-VIH 1 ou anti-VIH 2 doit être confirmé par de confirmation.

*V-RESULTATS*

## 1- Socio-démographiques

**Tableau IV:** Répartition des sujets d'étude selon la tranche d'âge

Age (Années)	Effectif	Pourcentage
18-25	21	22,6
26-33	33	<b>35,5</b>
34-41	19	20,4
>41	20	21,5
<b>Total</b>	<b>93</b>	<b>100</b>

La tranche d'âge de 26-33 ans était la plus représentée avec un taux de 35,5%. La moyenne d'âge était 33 ans. L'âge minimum était de 19 ans et l'âge maximum était de 71 ans.

**Tableau V :** Répartition des sujets d'étude selon le sexe

Sexe	Effectif	Pourcentage
<b>Masculin</b>	57	<b>61,3</b>
<b>Féminin</b>	36	<b>38,7</b>
<b>Total</b>	<b>93</b>	<b>100</b>

Les hommes représentent 61,3% des patients et les femmes 38,7%. Le sexe ratio de 1,5 en faveur des Hommes.

**Tableau VI** : Répartition des sujets d'étude selon la situation matrimoniale

Situation matrimoniale	Effectif	Pourcentage
<b>Marié</b>	51	<b>54,8</b>
<b>Célibataire</b>	38	40,9
<b>Divorcé</b>	3	3,2
<b>Veuve</b>	1	1,1
<b>Total</b>	<b>93</b>	<b>100</b>

Les mariés représentaient 54,8% dans la population d'étude.

**Tableau VII** : Répartition des sujets d'étude selon l'âge et le sexe

Age	Sexe			
	<i>Masculin</i>		<i>Féminin</i>	
	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>
18-25 ans	24,6	14	19,4	7
26-33 ans	<b>29,8</b>	17	<b>44,4</b>	16
34-41 ans	22,8	13	16,7	6
>41 ans	22,8	13	19,4	7
<b>Total</b>	<b>100</b>	<b>57</b>	<b>100</b>	<b>36</b>

Dans les deux sexes, les sujets ayant la tranche d'âge comprise entre 26 et 33 ans étaient majoritaires avec 29,8% d'hommes contre 44,4% de femmes.

**Tableau VIII** : Répartition des sujets d'étude selon la profession

Profession	Effectif	Pourcentage
Domestique	21	<b>22,6</b>
Profession libérale	19	<b>20,4</b>
Etudiant	13	14,0
Ouvrier	12	12,9
Fonctionnaire	11	11,8
Militaire	9	9,7
Autres	8	8,6
<b>Total</b>	<b>93</b>	<b>100</b>

Les domestiques (22,6%) et les sujets des professions libérales (20,4%) étaient majoritaires.

**Tableau IX** : Répartition des sujets d'étude selon le lieu d'enquête

Lieu d'enquête	Effectif	Pourcentage
CNTS	62	<b>66,7</b>
Service des maladies infectieuses du CHU du Point-G	31	33,3
<b>Total</b>	<b>93</b>	<b>100</b>

La majeure partie de notre population d'étude (66,7%) a été recrutée dans le Centre National de Transfusion Sanguine (CNTS).

## 2- Cliniques

**Tableau X** : Répartition des sujets d'étude selon le type de signe clinique manifesté dans les deux structures de l'étude.

Signe clinique	Effectif	Pourcentage
Patient ayant un signe mineur	39	<b>62,9</b>
Patient ayant deux signes majeurs	23	<b>37,1</b>
<b>Total</b>	<b>62</b>	<b>100</b>

Les patients ayant un seul signe mineur représentaient 62,9%. Par contre ceux qui avaient deux signes majeurs représentaient 37,1.

## II- Biologiques

**Tableau XI** : Répartition des cas de VIH positif selon le type de virus dans les deux structures de l'étude.

Type de VIH	Effectif	Pourcentage
VIH-1	55	<b>88.7</b>
VIH-2	6	9.7
VIH-1+2	1	1.6
<b>Total</b>	<b>62</b>	<b>100</b>

Les personnes infectés par le VIH, portaient majoritairement le VIH-1 (88,7%). Un seul cas de co-infection VIH-1 + VIH-2 a été détecté.

**Tableau XII :** Répartition des séropositifs selon le taux de CD4+

Taux de CD4+(/mm <sup>3</sup> )	Effectif	Pourcentage
<200	30	<b>48.4</b>
200-499	25	40.3
≥500	7	11.3
<b>Total</b>	<b>62</b>	<b>100</b>

Les sujets ayant un taux de CD4 inférieur à 200 représentaient 48,4% ; par contre 11,3% avaient les taux supérieur à 500/mm<sup>3</sup>.

**Tableau X III :** Répartition des sujets d'étude selon la présence de l'AgHBe.

AgHBe	Effectif	Pourcentage
<b>Positif</b>	11	<b>11.8</b>
<b>Négatif</b>	82	88.2
<b>Total</b>	<b>93</b>	<b>100.0</b>

Près de 12% (11,8%) des sujets étaient porteurs de l'AgHBe.

**Tableau XIV :** Répartition des sujets d'étude selon la présence de l'AcHBs.

AcHBs	Effectif	Pourcentage
<b>Positif</b>	1	<b>1.1</b>
<b>Négatif</b>	92	98.9
<b>Total</b>	<b>93</b>	<b>100.0</b>

Une fine partie de la population d'étude avaient produit l'anticorps HBs (1,1%).

**Tableau XV :** Répartition des sujets d'étude selon la présence de l'AcHBc.

AcHBc	Effectif	Pourcentage
<b>Positif</b>	89	<b>95.7</b>
<b>Négatif</b>	4	4.3
<b>Total</b>	<b>93</b>	<b>100.0</b>

Le majeure partie des sujets d'étude avait développé l'AcHBc (95%).

**Tableau XVI :** Répartition des sujets d'étude selon la présence de l'AcHBe.

AcHBe	Effectif	Pourcentage
<b>Positif</b>	11	<b>11.8</b>
<b>Négatif</b>	82	88.2
<b>Total</b>	<b>93</b>	<b>100.0</b>

11,8% des sujets étaient porteurs de l'anticorps HBe.

### III- Analytiques

**Tableau XVII:** Répartition des patients porteurs et non porteurs de l'AgHBe en fonction de la positivité de la sérologie de l'AgHBs, en association avec celle du VIH et le SIDA.

AgHBe	AgHBs+	Statut sérologique	
		AgHBs+/ VIH+/ SIDA-	AgHBs+/ VIH+/ SIDA+
	(n=31) %	(n=31) %	(n=31) %
AgHBe+	12,9	6,5	16,1
AgHBe-	87,1	93,5	83,9
<b>Total</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>

P = 0,46

L'AgHBe était présent chez les sujets porteurs AgHBs+ (12,9%), AgHBs+/VIH+/SIDA+ (16,1%). Cependant on n'observe pas différence statistiquement significative.

**Tableau XVIII :** Répartition des patients porteurs et non porteurs de l'AcHBs en fonction de la positivité de la sérologie de l'AgHBs, en association avec celle du VIH et le SIDA.

AcHBs	AgHBs+	Statut sérologique	
		AgHBs+/ VIH+/ SIDA-	AgHBs+/ VIH+/SIDA+
	(n=31) %	(n=31) %	(n=31) %
AcHBs+	0	0	3,2
AcHBs-	100	100	77,4
<b>Total</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>

L'AcHBs était présent seulement chez les sujets porteurs de AgHBs+/VIH+/SIDA+ avec un taux de 3,2%.

**Tableau XIX :** Répartition des patients porteurs et non porteurs de l'AcHBc en fonction de la positivité de la sérologie de l'AgHBs, en association avec celle du VIH et le SIDA.

<b>AcHBc</b>	<b>AgHBs+</b>	<b>Statut sérologique</b>	
		<b>AgHBs+/ VIH+/ SIDA-</b>	<b>AgHBs+/ VIH+/ SIDA+</b>
	<b>(n=31)</b>	<b>(n=31)</b>	<b>(n=31)</b>
	%	%	%
<b>AcHBc+</b>	<b>100</b>	<b>93,5</b>	<b>93,5</b>
<b>AcHBc-</b>	0	6,5	6,5
<b>Total</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>

P=0, 2

L'AcHBc était présent chez les sujets porteurs d'antigène AgHBs+ (100%), AgHBs+/VIH+/SIDA- (93,5%) et AgHBs+/VIH+/SIDA+ (93,5%). Cependant on n'observe aucune différence statistiquement significative.

**Tableau XX :** Répartition des patients porteurs et non porteurs de l'AcHBe en fonction de la positivité de la sérologie de l'AgHBs, en association avec celle du VIH et le SIDA.

<b>AcHBe</b>	<b>AgHBs+</b>	<b>Statut sérologique</b>	
		<b>AgHBs+/ VIH+/ SIDA-</b>	<b>AgHBs+/ VIH+/ SIDA+</b>
	<b>(n=31)</b>	<b>(n=31)</b>	<b>(n=31)</b>
	%	%	%
<b>AcHBe+</b>	0	<b>12,9</b>	<b>22,6</b>
<b>AcHBe-</b>	100	87,1	77,4
<b>Total</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>

P=0,005

L'AcHBe était rencontré seulement que chez les porteurs de AgHBs+/VIH+/SIDA- (12,9%) et (22,6%) chez les porteurs d'antigène AgHBs+/VIH+/SIDA+. Cette différence est statistiquement significative.

**Tableau XXI :** Répartition des patients porteurs de type VIH-1, VIH-2 et VIH-1+2 en fonction des taux de CD4.

Type de VIH	Taux de CD4		
	<200 (n=30) %	200 - 499 (n=25) %	>500 (n=7) %
VIH-1	90	84	100
VIH-2	10	12	0
VIH-1+2	0	4	0
<b>Total</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>

P<0,001

Les taux de CD4 étaient élevés que chez les porteurs du VIH-1.

**Tableau XIX :** Répartition des patients porteurs et non porteurs d'AgHBe en fonction des taux de CD4.

AgHBe	Taux de CD4		
	<200 (n=30) %	200 - 499 (n=25) %	>500 (n=7) %
AgHBe+	13,3	12,0	0
AgHBe-	86,7	88,0	100
<b>Total</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>

P=0, 6

L'AgHBe était rencontré dans les intervalles inférieurs à 200 (13,3%) et 200-499 (12%).

## *VI-DISCUSSION*

## **VI-I La méthodologie :**

Le but de notre étude, était d'évaluer le risque de l'atteinte hépatique lors de la co-infection VHB/VIH après analyse des différents marqueurs sérologique du VHB et du VIH. L'étude a été conduite sur l'ensemble des donneurs de sang des bénévoles du CNTS, ainsi que les malades hospitalisés au service des maladies infectieuses du CHU du Point-G à Bamako (Tableau IX) ; et qui ont répondu à nos critères d'inclusions : être hospitalisé au service des maladies infectieuses ou être donneur volontaire de sang du CNTS ; être porteur de l'antigène de surface de l'hépatite B ou du VIH ; ainsi qu'avoir donné son consentement éclairé.

Le traitement des échantillons prélevés s'est déroulé au CNTS.

Notre étude est une enquête prospective et transversale. Elle s'étendait du 1<sup>er</sup> Février 2006 au 1<sup>er</sup> Octobre 2006.

Au total, nous avons étudié 93 personnes ou volontaires dont 31 porteurs d'AgHBs+, 31 porteurs d'AgHBs+/VIH+/SIDA-, et 31 porteurs d'AgHBs+/VIH+/SIDA+.

L'échantillonnage s'est effectué de façon exhaustive et a été limité à 93, pour une raison de coût car l'étude n'ayant pas été financé, les examens biologiques ont été effectués avec les kits disponibles.

## **VI-II Résultats globaux:**

### **Au plan socio-démographique:**

les sujets d'étude étaient majoritairement des hommes (61,1%) ayant un âge compris entre 26 et 33 ans (35,5%). La moyenne d'âge était 33,27 ans avec un âge minimum de 19 ans et un maximum de 71 ans (Tableaux IV). Ils sont constitués en majorité de domestiques (22,6%), de sujets exerçant une profession libérale (20,4%), et les étudiants (14%) (Tableau VIII). Oumar Guindo avait obtenu 87,2% d'hommes ayant un âge compris entre 18 et 33 ans (30). Ceci s'expliquerait par le mode de recrutement des donneurs de sang qui étaient essentiellement des donneurs parentaux de tranche d'âge beaucoup plus disposée au don de sang. Suivant les deux sexes, les malades hospitalisés au service des maladies infectieuses étaient plus co-infectés. C'était des adultes dont la tranche d'âge varie de 26 à 33 ans. La grande majorité des sujets d'étude était mariés et représentaient 54,8% ; contre 1,1% de veuf(ve) (Tableau VI). Ceci s'explique par la grande mobilité des adultes mariés.

Le sexe masculin représentait (61,3%) contre (38,7%) pour le sexe féminin avec un ratio de 1,5 en faveur des hommes (Tableau V). Le sexe ratio est variable d'une enquête à une autre : Oumar Guindo en 2003 avait obtenu 6,81 en faveur des hommes. Haguiratou w.o a obtenu 1,53 en 2004 au CNTS de Bamako. Mais il est toujours en faveur des hommes. Les hommes donnent plus souvent leur sang que les femmes. Les femmes en menstruation, les femmes enceintes ou allaitantes sont dispensées du don de sang (cf thèse O.Guindo ; p 63).

Les mariés 54,8% et les célibataires 40,9% représentaient la couche majoritaire; cela est due au fait qu'au CNTS les adultes et les jeunes sont prioritaires au don de sang (TableauVI). De plus ce sont les deux groupes socialement et économiquement actifs puis ayant échappé aux maladies infantiles.

#### **Au niveau de la clinique :**

Les porteurs ayant un signe mineur représentaient 62% contre 37,1% chez ceux avec deux signes mineurs (Tableau X). En ce qui concerne le dépistage des infections par les VHB et VIH, il s'effectue au CNTS par des techniques immuno-enzymatiques (ELISA), qui consistent à rechercher dans le sérum ou le plasma, la présence de l'antigène de surface pour le VHB, et l'anticorps anti-VIH puis un second test de typage (ImmunocombII). La recherche des marqueurs du VHB a été aussi réalisée par méthode d'ELISA. **Au niveau de la biologie**, le VIH-1 était le plus souvent en cause avec un taux de 88,7% (Tableau XI). L'Afrique subsaharienne reste la zone la plus touchée avec une estimation actuelle rapportée du 21 novembre 2006 de l'ONUSIDA/OMS montre qu'il ya 24,7 millions de sujets infectés, 2,8 millions de nouveaux cas et 2,1 millions de décès (83). Ces résultats se confirment avec ceux d' Abdoulaye Kamissoko et Sogoba Dramane qui ont obtenu respectivement 92% en 2003 et 88% en 2005.

La majeure partie de nos populations d'étude avait un taux de CD4+ inférieur à 200 soit 48,4% (Tableau XII). Ces résultats sont similaires avec ceux du tableau de classification du CDC 1993 (87). A Hong Kong, Kam et *al.* ont réparti des adultes chinois infectés par le VIH en fonction du nombre de lymphocytes TCD4+ en 3 catégories : 1 > 220 /UI (>12%) ; 2 = 100 à 200 /ul (6 à 12%) et 3 = < 100/ul (< 6%). Ils ont constaté que leurs critères de stratification a donné une meilleure discrimination et une valeur pronostique par rapport à ceux du CDC en ce qui concerne l'évolution de l'infection par le VIH (88). Cette forte baisse du taux de CD4+ témoigne d'une lymphopénie marquée ainsi qu'une augmentation de l'infection

virale ce qui conduit vers un mauvais pronostic chez ces sujets porteurs des deux virus.

### **VI-III Au plan sérologique :**

Près de 12% des sujets étaient porteurs d'AgHBe+ (Tableau XII). Une étude similaire qui avait pour objectif d'évaluer les facteurs de risque de la co-infection VHB/VIH, au département des maladies sexuellement transmissibles de l'école médicale de Londres a montré que l'analyse de d'hybridation moléculaire a distingué les porteurs avec des valeurs élevés et modérés. 10 à 20% de porteurs d'AgHBs+/AgHBe+ avaient des niveaux élevés d'ADN du VH B dans le sérum des sujets. Le portage de ce marqueur à long terme, témoigne d'une réponse immunologique aboutissant à la lyse cellulaire hépatique (58).

L'anticorps HBs a été rencontré chez 1,1% (Tableau XIV), cet anticorps est dirigé contre l'AgHBs et apparaît le plus souvent lorsque l'AgHBs n'est plus détectable. Le plus souvent, il est détecté lors de la convalescence d'une affection aiguë, il signe la guérison et traduit une immunité vis-à-vis de la maladie (88). Près de la majorité de nos sujets avaient développé l'anticorps HBc 95,7% (Tableau XV). Des études déjà faites depuis 1980 au Mali ont rapporté une séroprévalence de l'AgHBs comprise entre 10 et 16% (88,86). Celle de l'AcHBc était de 68,9% dans la population générale des pays de forte endémicité (65). Au Mali, Fatoumata Komou en 2003 a obtenu une prévalence de 67,8% en milieu urbain et 75,9% en milieu rural. L'anticorps HBc est le meilleur marqueur de l'infection par le virus de l'hépatite B sur le plan épidémiologique. En Afrique, singulièrement en Mauritanie, l'étude de Lepers de 1988 a montré une forte endémicité avec un taux de 88,7% de porteurs d'AcHBc et 22% d'AgHBs+ (42). Ces résultats sont similaires à ceux obtenus au service des maladies infectieuses de l'hôpital de Brazzaville car sur 334 prélèvements du service, 286(85,6%) avaient développé l'anticorps HBc ; ce qui témoigne de la fréquence élevée de l'infection (26).

### **VI-IV Au plan analytique :**

Notre étude a montré que : 12,9% d'AgHBe était rencontré chez les sujets porteurs d'AgHBs+ et 16,1% des porteurs d'AgHBs+/VIH+/SIDA+. On n'observe aucune différence statistiquement significative avec  $p=0,46$ (Tableau XVII). La coinfection VHB/VIH augmente alors les risques d'apparition de l'AgHBe+. Ce marqueur apparaît en période de répllication active du virus de l'hépatite B ; ce qui conduit à de

nombreuses complications hépatiques. L'immunodépression provoquée par l'infection due au virus du sida, accélère le cours de l'affection hépatique induite par le virus de l'hépatite B. Cette même étude faite au service des maladies infectieuses de l'hôpital Carlos III de Madrid en Espagne, montra que 79 sujets co-infectés HIV/VHB, 39(50%) avaient développé l'AgHBe+ (87).

La répartition de l'AchBs en fonction du statut sérologique montre que seule les groupes porteurs d'AgHBs+/VIH+/SIDA- avec 12,9% et AgHBs+/VIH+/SIDA+ avec 22,6% avaient développé cet anticorps (Tableau XVIII). Mais cette différence n'est pas statistiquement significative. Aucune étude comparative n'a été réalisée au Mali afin d'analyser ses marqueurs lors de la co-infection VHB/VIH.

Les anticorps anti-HBc étaient présents chez les sujets porteurs d'antigène AgHBs+ (100%), AgHBs+/VIH+/SIDA- (93,5%) et AgHBs+/VIH+/SIDA+ (93,5% (Tableau XIX). Cependant on n'observe pas de différence statistiquement significative. Presque tous les sujets avaient développé cet anticorps dirigé contre la capsid virale. La présence d'anticorps dirigé contre la capsid (AchBc) témoigne d'une infection évolutive. Sombo et *al.* A travers leur série d'étude ont observé que 80,50% des sujets hébergeant le VHB, avaient des anticorps anti-capsid (AchBc) (87).

Les anticorps anti-HBe (AchBe) étaient rencontrés seulement que chez les porteurs à AgHBs+/VIH+/SIDA- (12,9%) et chez les porteurs à AgHBs+/VIH+/SIDA+ (22,6%) (Tableau XX). Cette différence est statistiquement significative. Cet anticorps neutralise l'AgHBe ; il induit la guérison de l'affection sauf en cas de mutation dans la région pré-C. Il apparaît dans la majorité des cas lorsque l'antigène a disparu et signale la fin de la période de multiplication virale. La grande majorité de nos sujets alités étaient sous traitement ARV avant leur dépistage pour la recherche d'antigène HBs+ ; raison pour laquelle ces sujets avaient développé l'AchBe (84).

## *VII-CONCLUSION*

Nous avons, mené du 1<sup>er</sup> février 2006 au 1<sup>er</sup> octobre 2006, une enquête, prospective et transversale chez les donateurs de sang bénévoles du CNTS, et les malades hospitalisés au service des maladies infectieuses du CHU du point-G à Bamako. Le critère d'inclusion concernait tous les sujets ayant l'antigène HBs+ et qui ont donné leur consentement éclairé pour le dépistage du VIH par la technique d'ELISA.

Au total nous avons porté l'étude sur 93 personnes dont 31 porteurs d'AgHBs+ ,31 porteurs d'AgHBs+/VIH+/SIDA- et 31 porteurs d'AgHBs+/VIH+/SIDA+. Cette étude nous a permis de savoir que :

La grande majorité des sujets co-infectés sont des hommes (61,1%) ayant un âge compris entre 26 et 33 ans ; la moyenne d'âge est de 33,27 ans.

Les sexe masculin est le plus représenté avec 61,3% contre 38,7% de sexe féminin ; avec un ratio de 1,5 en faveur des hommes.

Dans cette étude, les mariés (54%) et les célibataires (40,9%) constituent la couche la plus touchée par cette co-infection.

La fréquence du VIH-1 est plus élevée dans notre population d'étude 88,7%. Plus de 48% des sujets avaient un taux de CD4+ inférieur à 200/mm<sup>3</sup>.

La fréquence du portage de l'AgHBe est élevée dans l'ensemble avec 12%. Par contre l'AchBe est rencontré chez les porteurs d'AgHBs+/VIH+/SIDA- (12%). Parmi ces sujets ceux qui avaient le taux de CD4+ inférieur à 200 /mm<sup>3</sup> étaient majoritaires (13%).

L'AchBs a été rencontré chez 1,1% des sujets ; et c'est seulement les porteurs d'AgHBs+/VIH+/SIDA+ qui l'avaient développé avec un taux de 3,2%.

La fréquence du portage de l'AchBc est élevée dans l'ensemble 100% chez les sujets à AgHBs+, 93% chez les porteurs d'AgHBs+/VIH+/SIDA- de même que les porteurs d'AgHBs+/VIH+/SIDA+. Néanmoins on n'observe aucune différence statistiquement significative.

## *VIII-RECOMMENDATIONS*

Nos résultats et conclusions nous conduisent aux recommandations suivantes à l'égard :

### **Des autorités sanitaires :**

- ❖ Renforcer les campagnes de sensibilisation de la population sur les risques d'infection par le VHB et le VIH.

### **Du Centre National de Transfusion Sanguine :**

- ❖ Renforcer le dépistage des infections par le VIH, et VHB chez les donneurs de sang réguliers.
- ❖ Promouvoir la fidélisation des donneurs réguliers de sang.
- ❖ Mettre en place un système de suivi et de référence des donneurs de sang co-infectés par le VIH/VHB.

### **Du service des maladies infectieuses :**

- ❖ Rechercher les marqueurs du virus de l'hépatite B chez tous les porteurs du VIH.
- ❖ Renforcer le suivi thérapeutique des sujets ayant à la fois les marqueurs de réplication virale du VHB et du VIH/SIDA.

*IX-REFERENCES  
BIBLIOGRAPHIES*

- [1]- **AGUT H., V.CALVEZ. , A. G- DEJEAN.**  
Virologie médicale et infection VIH. In: P-  
M. GIRARD. Ch. KATLAMA.G. PLALOUX  
VIH édition 2001
- [2]- **ATHONNY HARRIES, DEMONT MATHER et al.**  
WOH: TB/VIH MANUAL CLINIQUE  
Second edition 2004 who/htm/tb/2004.329.
- [3]- **BARRE SINOUSI F.**  
HIV as the cause of AIDS.
- [4]- **BARRE S.**  
Virologie fondamentale de l'infection à VIH tiré de GIRARD P. M et AL-SIDA  
Edition Doin Paris 1998
- [5]- **BENHAMOU JP**  
Maladies du foie et des voies biliaires.  
In Med-science. Paris, Flam Marion, 1990; 4:33-50
- [6]- **BENHAMOU Y, KAMAMAC, LUNEL F.**  
Effects of Lamivudine on replication of hepatitis B virus in HIV infected men.  
Ann intern Méd 1996; 125: 705 - 712
- [7]- **BISSAGNE, DRAO J, EHOIE SP, GIRARD PM, SOW PS, TRAORE  
HA et al.**  
Mémento thérapeutique du VIH/SIDA en Afrique, IMEA (première édition) Paris  
2005, 242 p.
- [8]- **BOURLIERE M.**  
Le traitement des hépatites chroniques B et delta.  
In VI<sup>ème</sup> journées Sénégalo Belges d'Hépatogastroentérologie, Dakar : 27,  
28,2 Novembre 2003 :61-68
- [9]- **BRISOT P, BOUCHER E, GUYADER D.**  
Epidémiologie et histoire naturelle de l'hépatite virale B hors mutation :  
Journée d'actualités en hépatogastrologie. Paris, 8octobre 1999.  
Mise en ligne par Bruno MBOUR sur
- [10]- **BROWN G.**  
The impact of VIH/AIDS on the African American Woman and Child:  
epidemiology,  
Cultural and psychosocial issues and nursing management, ABNF J, 2001,  
12(3):60-2
- [11]- **CHAMARET S.**  
Encore un nouveau Rétrovirus VIH-1 identifié.  
Transcriptase sud 1999 ; 1 : 28-30
- [12]- **CADRANEL JF.**  
Comment traiter une hépatite B chronique en dehors d'un protocole  
thérapeutique en1997 ?  
Gastro-entérologie pratique 1997, 82 : 4-8.
- [13]- **CADRANEL JF, CARONC, COLLOT G, VABATTEN C, DUMOUCHEL P.**  
Hépatite B : Epidémiologie, histoire naturelle, biologie, surveillance du  
Traitement.  
Path Biol 1999 ; 47, n°9 :917-927
- [14]- **C.MBENDI NLOMBI. MBENZA**  
Prévalence du VIH et de L'AgHBs chez les donneurs de sang. Risque de

- contamination chez les receveurs de sang à Kinshasa Est, République Démocratique du Congo.  
Méd. Trop. 2001 ; 61 : 139-142
- [15]- **CHAMARET S.**  
Encore un nouveau retrovirus VIH-1 identifié.  
Transcriptase sud 1999 ; 1 : 28-30
- [16]- **CHABROLLE D. et AGUT H**  
Diagnostic biologique de l'infection à VIH in M. ROSENHEIM ET ITOUA-NGOPRO SIDA-INFECTIION VIH, aspect en zone tropicale. CH1-P 36-46.  
Edition Ellipses/Aupelf Paris 1989
- [17]- **COULIBALY.**  
Prévalence des anticorps antiHCV chez les donneurs de sang au CNTS de Bamako. Thèse méd. 1993 ; N° 52
- [18]- **COFFIN SE.**  
Future vaccines: recent advances and future prospects, Prim Care, 2001, 28(4); 869-87
- [19]- **DANE DS, CAMEROON CH, BRIGGS M.**  
Virus like particles in serum of patients with Australia antigen associated hepatitis.  
Lancet 1970; I: 698-698.
- [20]- **DAAR ES, LITTLE S, PITT J; et al.**  
Diagnosis of primary HIV-1 infection. Los Angeles Country Primary HIV Infection Recruitment Network. Ann Intern Med 2001; 134:25-9
- [21]- **DELLBETTA G. FIESL M.L. , LAGAM. ISLA M M.**  
La lutte contre les IST un fardeau mondial et un défi à la prévention AIDSCAP/USAID 1997; 15
- [22]- **DE FRANCHIS R, MEUCCI G, VECCHI M, TATARELLA M, COLOMBO M, DEL-NONNO E et al**  
The natural history of asymptomatic hepatitis B surface antigen carriers.  
Ann Intern Med 1993; 118: 191 – 194.
- [23]- **DIENSTAG JL, GOLDIN RD, HEATHCOTE EJ, HANN HW, WOESSENER M, STEPHENSON SL et al.**  
Histological outcome during long –term Lamivudine therapy  
Gastro-enterologie 2003; 124-17
- [24]- **DOUMBIA AK**  
Place de la Laparoscopie au cours des douleurs abdominales chez les malades atteints de SIDA dans les services de Médecine Interne de l'Hôpital du point « G » et d'hépatogastroentérologie de l'Hôpital Gabriel Touré  
Thèse Méd, Bamako, 2004; n° 56.
- [25]- **DYE C, SCHEELE S, DOLIN P, et al**  
Global burden of tuberculosis.  
Estimated incidence, prevalence, and morbidity by country .JAMA 1999; 282: 677-687.
- [26]- **ELEFSINIOTIS TS, GLYNOU I, MAGAZIOTOU I, PANTAZIS KD**  
HBe Ag negative serological status and low viral replication levels  
Characterize chronic hepatitis B infected women at reproductive age in Greece.  
Word J Gastroenterol 2005: 11(31): 4879 - 4882.  
<http://www.wjgnet.com/1007-9327/11/4879.asp>.

- [27]- **FERRARI C, PENNA A, BERTOLETTI A, VALLI A, DEGLI ANTOINE A, GIUBERTI T et al.**  
Cellular immune response to hepatitis B virus encoded antigens in acute and Chronic Hepatitis B virus infection.  
J Immunol 1990;145; 3442-3449
- [28]- **FOFANA Y, TANGARA A, SIDIBE S, COUROUCE AM.**  
Contribution à l'étude de l'AgHBs porté par des sujets apparemment sains au Mali.  
Rev Fr Transfo. Immuno. Hemato. 1981, 537-43.
- [29]- **GHYS PD, DIALLO MO, ETTIEGNE – TRAORE V, et al.**  
Effect of interventions to control sexually transmitted disease on the incidence of HIV Infection in female sex workers, AIDS? 2001, 27; 15(11):421-31.  
Contribution à l'étude de l'AgHBs porté par des sujets apparemment sains au Mali.  
Rev Fr Transfo. Immuno. Hemato. 1981, 537-43.
- [30]- **GUINDO O**  
Infection à VIH et à VHB chez les donneurs de sang au CNTS de Bamako  
Thèse de pharmacie N° 47 Bko 2003
- [31]- **HALIOUA B et PRAZUCK T .** Infection à VIH : de la clinique au traitement.  
Laboratoire Glaxowellcome, 1996
- [32]- **HORVATH J, RAFFANTI SP.**  
Clinical aspects of interactions between human immunodeficiency virus and the hepatotropic viruses. Clin infect Dis 1994; 18:339-347
- [33]- **HORVATH J, CAMEROON CH, DANE DS.**  
Clinical aspects of interactions between human immunodeficiency virus and the Hepatotropic viruses. Clin infect Dis 1994; 18:339-347
- [34]- [http:// www.hepnet.com](http://www.hepnet.com) consulté 05/03/06
- [35]- [http:// www.documentation.ledamed.org](http://www.documentation.ledamed.org) consulté 06/10/06
- [36]- <http://www.hepatoweb.com/> consulté 10/04/07
- [37]- <http://www.hepatite-c.org> consulté 03/07/06
- [38]- <http://www.sante.gouv.fr/htm/pointsur/hepatitec/index.htm> consulté 16/05/06
- [39]- [http:// www. Hépaties-info- service.org](http://www.Hépaties-info-service.org) consulté 02/10/06
- [40]- <http://www.hépatiteweb.com> consulté 15/30/07
- [41]- [http://anne.decoستر.free.fr/de\\_viro/vretro VO.html](http://anne.decoستر.free.fr/de_viro/vretro VO.html) consulté 21/03/06
- [42]- <http://www.santetropicale.com> consulté 21/03/06
- [43]- **JEAN-MARIE HURAUX**  
Structure et réplication du virus de l'hépatite B  
[http:// documentation.leadmed.org](http://documentation.leadmed.org) 2006 Doc

- [44]- **JEAN LOUIS FRAYSSE.**  
Info traitement de la co-infection VHB/VIH N° 141, oct. 2005
- [45]- **J. F.QUARANTA, B.REBOULOT, J. P CASSUTO**  
In Abrégés d'hépatites virale 6<sup>ème</sup> édition, 1p
- [46]- **JIBRIN Y B AND MUSTAPHA SK.**  
Hepatitis B surface antigenaemia in patients with HIV infection.  
Annals of African medicine 2004; 10 - 12
- [47]- **KAM KM, WONG KH, LIPCK, LEE SS LEUNGWL and KWOKMV.**  
Proposed CD4+ T cell criteria
- [48]- **KAMISSOKO. A**  
La co-infection par le VIH et le Bacille tuberculeux en commune IV de Bamako.  
Thèse, Med, 2004, p 10.
- [49]- **KREMSDORF D, THIERS V, GANENAU F, NALPAS B, BRECHOT C, PATERLINI P.**  
Variabilité génétique du virus de l'hépatite B et son expression sérologique.  
Med. Sci 1990 :108-116.
- [50]- **LAU JY, VG, DANIES SE, O'GRADY JG, ALBERTI A, ALEXANDER GJ F et al.**  
.High-level expression of hepatitis B viral antigens in fibrosing cholestatic Hepatitis.  
Gastroenterology 1992; 102: 956-962.
- [51]- **LE BRAS M, BERTRAND ED.**  
Internet des angiographies et de la Laparoscopie dans le diagnostic de la Schistosomiase hépatique.  
Med Trop 1975; 35: 201-204.
- [52]- **LIM K S, CATTERALL R D, SIMON R, DANE S D, BRIGG S M, TEDDER RS.**  
Reservoir of hepatitis B  
J. of infection 1979; 1: 163-170
- [53]- **LINDH M, HORAL P, DHILION AP, NORKRANS G.**  
Levels Hepatitis B virus DNA, precore mutations, genotypy and histological Activity in the chronique hepatitis B carriers.  
J Hepat Viral 2000 Jul ; 7 (4) : 258-67.
- [54]- **MAIGA YI, MARJOLE T, Ag RHALLY A et PILLO TJ**  
Transmission du VHB de la mère à l'enfant à Bamako au Mali.  
Bull. Soc Path Exot 1992 ; 85 : 5-9.
- [55]- **MAMMETTE A.**  
Virologie médicale; collection Azay, presse universitaire de Lyon 2002 : 798p
- [56]- **MAUPAS P, CHIRONJ P, GOUDEAU A, COURAGET P, PERRIN J et al**  
Epidémiologie et conséquences pathologiques du portage chronique du VHB au Mali.  
Bull. Soc Patho Exot 1981; 74: 722- 732.
- [57]- **MARCELLINE P.**  
Histoire naturelle et traitement de l'hépatite virale B.  
In TREPO C, VALLA D. Progrès en hépatologie : hépatites virales.Doin.1993.  
33 - 49 p
- [58]- **MARCELLIN P. ZARSKI J.P**  
Les virus des hépatites B et Delta : In Briard P. (éd). Les virus transmissives par le sang. Monrouge – Londres – Rom: John Liddey Eurotext, 1996: 53 – 75

- [59]- MEZR TN, KRAVENSKI, MICHALACK T.**  
 Intercellular localisation of hepatitis B anti en in liver tissu.  
 In bianchi (L) and al.  
 Virus and the live, Basel: MTP press limited 1979:85
- [60]- MEZR TN, KRAVENSKI, MICHALACK T.**  
 Intercellular localisation of hepatitis B antigen in liver tissu.  
 In Bianchi (L) and al.  
 Virus and the liver, Basel: MTP Press Limited 1979: 85.
- [61]- M LAMINE DIOUF.**  
 Epidémiologie de l'hépatite B  
 In VI ème Journées de Gastro-entérologie d'Afrique Francophone.  
 Dakar, 27, 28,29. Novembre 2003 : 49 p
- [62]- NELSON, PORTSMOUTH S, STEBBING J, PILLAYD, TATKINS M, ROBOWERM et al.**  
 Ténofovir in HIV-1/HVB. AIDS 2003; 17; 7 – 10
- [63]- NEWMAN LM, MIGUEL F, JEMESSE BB, et al.**  
 HIV seroprevalence among military blood donors in Manica province, Mozambique, int J STD AIDE. 2001, 12(4) : 225-8.
- [64]- NieL TC. Callahan JD. Watts MD.**  
 Dépistage HIV et Control de qualité Guide du personnel de laboratoire AIDSTECH, 1991
- [65]- NICOLA DOUAT**  
 Virologie volume 2, 3è édition – triage 2004-2005
- [66]- NKENGASONG JN, KESTENS L, GHYS PD, et al.**  
 Dual infection with human immunodeficiency virus type 1 and type 2: impact on HIV type 1 viral load
- [67]- NIEDERAN K, HEINTGES T, LANGE S, GOLDMAN G, NIEDRAN CM, MOHR L et al.** Long-term follow-up of HBe Ag positive patients treated with Interferon alfa for chronic hepatitis B.  
 N Engl J Med 1996; 224:1422-1427.
- [68]- OUEDRAOGO A. W.**  
 Evaluation des performances de sept tests de dépistage du VIH utilisés au CNTS de Bamako  
 Thèse de Pharmacie, FMPOS... 04... Bamako.
- [69]- ONU/SIDA**  
 5ème rapport sur l'épidémiologie du VIH/SIDA ,2005
- [70]- ONUSIDA ET OMS.**  
 Le point sur l'épidémie mondiale de sida, décembre 2002
- [71]- ONUSIDA/ Rapport sur l'épidémie mondiale de VIH/SIDA-2002**
- [72]- ONUSIDA/OMS.** Rapport sur l'épidémie mondiale de l'infection à VIH/SIDA.  
 Genève (Suisse) Novembre 2002
- [73]- ONUSIDA/OMS :** Guide pour l'organisation d'un système National d'Evaluation Externe de Qualité de l'analyse Sérologique du VIH Genève (Suisse) Janvier 1996. 1211 Genève 27. Suisse
- [74]- PAIR JP. CHADWICK M DL.**  
 The biologic and clinical basis of infectious diseases, Eds Schulman ST, Phair JP, Sommers HM. Philadelphia: WB Saunder, 1992: 383.

- [75]- **PALMER CJ., DUBON JM., KOENIG E., et al.**  
Field evaluation of determine HIV1/2 rapid human immunodeficiency virus diagnostic test in Honduras and the domican republic.  
Journ of clinic Microb, (111999; 37): 3698 – 700
- [76]- **POINT SUR LA SITUATION EPIDEMIOLOGIQUE DU VIH SIDA AU MALI**  
Résultats du test VIH/SIDA de L'EDSM III ; Déc. 2001 CPS
- [77]- **POL S, FONTAINE H:**  
Hepatitis virales.  
Encycl. Med Chir. (Elsevier, Paris), Maladie infectieuses, 8 -065-F-10, Pédiatrie 4. 310-10- 10, 1998, 22p.
- [78]- **point sur la situation épidémiologique du VIH/SIDA au MALI.**  
Résultat du test VIH/SIDA de EDSM-III Décembre 2001 CPS/MS-DNSI-INRSP-PNLS- CDC/Atlanta
- [79]- **Pr GOUBAU P.**  
UCL/10/05/2005- module 8 : maladies transmissives par le sang
- [80]- **P.M. GIRARD, CH. KATLAMA, G. PILOUX**  
Doin VIH 6ème EDITION 2004 P 68
- [81]- **RAFFI F.**  
La lettre de l'infectiologie, *Actualités sur le VIH- Mars 1999*
- [82]- **Rubrique hépatite**  
In journal du SIDA, Octobre 2006, N°189
- [83]- **Rapport ONUSIDA /OMS**  
[http:// www.pasteur.fr/actu/presse/documentation/onusida.html](http://www.pasteur.fr/actu/presse/documentation/onusida.html), 21 Nov 2006.
- [84]- **ROULOT D**  
Atteintes hépatobiliaires et pancréatiques au cours de l'infection par le Virus de l'immunodéficience humaine. Gastroenterol. Clin. Biol. 1997 ; 175 : 164-168
- [85]- **SANGARE DAOUA B.**  
Identification d'un algorithme de dépistage du VIH par des tests rapides utilisables dans les centres de dépistage et de conseil volontaire (CCDV) au Mali. Thèse de Pharmacie, FMPOS. N°03-P-19. Bamako Janvier 2003
- [86]- **SACKO M**  
Etude séro-épidémiologique de la transmission mère enfant de l'hépatite B dans le district de Bamako .  
Thèse de médecine, Bamako 1998 N° 66
- [87]- **SOMBO M F. YAPO GREGOIT T. SERKA J et al.**  
Prévalence de l'hépatite virale chez le personnel du labo d'hématologie et Immunologie du CHU de cocody. Essai de vaccination, 1998, in press.
- [88]- **SIDIBE SIAKA**  
Marqueurs sériques de l'hépatite B au Mali ; thèse de Médecine BKO, 1980 N° 202
- [89]- **SIDIBE S, SACKO BY, TRAORE I.**  
Prévalence des marqueurs sérologiques du virus de l'hépatite B chez les femmes Enceintes dans le district de Bamako  
Bull Soc Path Exot, 2001. 91 (4) : 339 -341.
- [90]- **THIERY BOTORO.**  
Evaluation des infections opportunistes au cours du traitement ARV  
Thèse, Med, Bamako, Mali, 2005, p42

**[91]- Tuberculosis and AIDS**

Point of view, October 1997. UNAIDS, Geneva, 1997

**[92]-TANGARA A**

Contribution de l'étude du portage de l'AgHBs chez les sujets apparemment Sains au Mali. Thèse phar, Bamako ; 1981 : 8

**[93]-TRAORE OUSMANE MAMADOU.**

Etude de la prévalence de l'infection chronique par le VHB dans la zone de Sélingué (7,5%).

**[94]- VON GEUNUS H, I. SJOGEN.**

Prévention de la tuberculose .Programmes antituberculeux en collaboration. Bull. UICTMR. 1990/91 ; 66 :47-59

**[95]- WHO Report 2004.**

Global tuberculosis Control. Surveillance, planning, financing. WHO, Geneva 2004. (WHO/HTM/TB 2004.331)

**[96]- WHO INFORMATION:**

Hépatite B ; Aide mémoire n° 204, octobre 2000.

[htt: // www.who.int/inf-fs/fr/am\\_204.html](http://www.who.int/inf-fs/fr/am_204.html)

**[97]-WHO/ Bureau régional de l'Afrique / Brazzaville .2004**

Division des maladies transmissibles programme régional SIDA.Manuel de Référence à L'usage des personnels de laboratoires .Le virus de L'immunodéficience humaine et son diagnostic.

**[98]-XAVIER F.Y**

L'antigénique HBs et paramètres hématologiques chez les donneurs de sang au CNTS de BKO.

Thèse de Pharmacie ; 57p N°34

**[99]-YANG H, WESTLAND C, DELANEY WE, ANGNUS PW, LOCENNI SA, KITIS G et al.**

Couplet genetic and phenotypic analyses of HBV mutations identified in HBe Ag-negative chronic hepatitis B patients receiving 96 weeks of adéfovir dipivoxil (AND).

Heptathlonien 2003; 38: 705A.

**[100]-ZARSKI JP.**

Biologie et variabilité du virus de l'hépatite B ;

Ann. Gastro-entérologie 1994 ; Tome XXX 3 : 119-127.

**[101]-ZYLBERG H, POL S.**

Histoire naturelle de l'infection virale B.

Médecine thérapeutique 1998; 4 : 21-29

**[102]-ZYLBERBERG H, POLS.**

Reciprocal interactions between human immunodeficiency virus and hepatitis C Virus infection clin infect Dis 1996; 23:1117-1125

**[103]-ZYLBERBERG H, JIANG J, PIALOUX G, DRISS F, CARNOT F , DUBOI F et al.**

Alfa-interferon for chronic active hepatitis B in human immunodeficiency virus Infected patients

*X-ANNEXES*

## **Fiche d'enquête :**

**Thème : Analyse des marqueurs de l'hépatite B chez les personnes coinfectées par le VIH et le VHB à Bamako.**

**Fiche d'enquête N°** ...../...../...../

**Date :** .....200....

**Lieu :** .....

**1 :** Centre National de Transfusion Sanguine (CNTS)

**2 :** Service des maladies infectieuses du Centre Hospitalo-universitaire du Point "G"

### **1- Etude sociodémographique**

**N° d'immatriculation :** .....

**Sexe :** .....

**Age** /...../

(M) masculin

(F) féminin

**Situation Matrimoniale :** .....

**1 :** Marié

**2 :** Célibataire

**3 :** Divorcé

**4 :** Veuf (ve)

**Profession :** .....

**1 :** fonctionnaire

**2 :** ouvrier

**3 :** élève

**4 :** domestique

**5 :** chômeur

**6 :** militaire

**7 :** autres

### **2- Résultats des Examens Biologiques :**

#### **2-1 Résultats de la sérologie VHB**

**Antigènes**

Ag HBs /...../

1-Présent DO=

2-Absent

Ag HBe /...../

1-Présent DO=

2-Absent

**Anticorps**

Ac Anti HBs, IgM/ IgG /...../

1-Présent DO=

2-Absent

Ac Anti HBe, IgM/ IgG /...../

1-Présent DO=

2-Absent

Ac Anti HBc, IgM/IgG /...../

1-Présent DO=

#### **2-2 Résultats de la Sérologie VIH**

\* **Genscreen HIV 1/2 V2:**...../

**1-Présent**

**2-Absent**

\* **Sérotypes à immunocoumb II bispot:**...../

**1-VIH-1**

**2-VIH-2**

**3-VIH-1+2**

**\*Dénombrement des CD4/...../. Valeur normale .....**

Sida déclaré /..... /

**1-Oui**

**2-Non**

**\*Stade de SIDA :..... 1-2-3-4**

**\* 2 Signes majeurs /...../ 1- oui 2- non**

**\* Les signes Majeurs :** Perte de poids supérieur à 10%  
Diarrhée chronique supérieur à un mois  
Fièvre prolongée supérieur à un mois

**\* 1 Signe mineur /...../ 1-oui 2- non**

**\* Les signes mineurs :** Toux supérieur à un mois  
Lymphadénopathie généralisée  
Infection herpétique  
Fatigue permanente  
Sueurs nocturnes  
Candidose buccale ou vaginale  
Herpes génitales récurrentes  
Cancer du col agressif à HPV

### **Consentement éclairé :**

J'accepte librement sans aucune contrainte de faire don de mon sang dans le but de ce projet de Thèse en pharmacie. J'accepte que les avantages et les risques liés à cette étude m'ont été expliqués la possibilité m'a été donnée de me retirer à n'importe quel moment de cette étude et sans conséquences sur mon suivi et mon traitement médical.

**L'intéressé**

**L'investigateur**

**Témoin**

## ***Fiche technique et résumé :***

**Nom:** Diawara

**Prénom:** Athanase

**Titre de la thèse:** analyse des marqueurs de l'hépatite B chez les personnes coinfectées par le VIH et le VHB à Bamako.

**Année:** 2006 – 2007

**Pays d'origine :** Mali

**ville de soutenance :** Bamako.

**Lieu de dépôt :** Bibliothèque de la faculté de médecine, de pharmacie et d'odontostomatologie.

### **Résumé :**

L'hépatite infectieuse de type B est une inflammation du foie, à transmission sexuelle, sanguine et parentérale. Notre étude est une enquête, prospective et transversale qui a été effectuée sur les donneurs de sang bénévoles admis du CNTS, et les malades hospitalisés au service des maladies infectieuses du CHU du Point-G à Bamako du 1<sup>er</sup> Février 2006 au 1<sup>er</sup> Octobre 2006. Le CNTS a servi de traitement des échantillons de sang prélevés. 93 sujets ont été identifiés dont 31 porteurs d'AgHBs+, testés par la technique ELISA, 31 porteurs d'AgHBs+/HIV+/SIDA- puis 31 porteurs d'AgHBs+/VIH+/SIDA+. Le but de notre étude, était d'évaluer le risque de l'atteinte hépatique lors de la co-infection VHB/VIH. La prévalence de l'AgHBe est estimée à 12% ; par contre 16,1% des porteurs d'AgHBS+/VIH+/SIDA+ l'avaient développé. Il était rencontré que chez les sujets qui avaient un taux de CD4+ inférieurs à 200 (13,3%) et compris entre 200 – 499 (12%).

L'AchBs était présent chez 1,1 % de la population d'étude et a été développé uniquement chez les porteurs d'AgHBs+/VIH+/SIDA+ avec un taux de 3,2%.

Les porteurs d'AgHBs+/VIH+/SIDA- (12,9%) et les porteurs d'AgHBs+/VIH+/SIDA+ 22,6 %.

L'AchBc a été rencontré chez la majorité des sujets de l'étude 95,7 %. Par contre 100% des porteurs uniquement d'AgHBs+ l'avaient développés.

La prévalence de l'AgHBe, était de 11,8% et a été rencontré que chez les porteurs d'AgHBs+/VIH+/SIDA- 12,9 % et 22,5 % chez les porteurs d'AgHBs+/VIH+/SIDA+ ; avec une différence statistiquement significative.

Le VIH -1 était le plus souvent en cause et les porteurs de ce type de VIH avaient des taux de CD4+ élevés.

### ***Card-indexes technical and summary:***

**Name:** Diawara

**First name:** Athanase

**Titrate thesis:** analyze markers of hepatitis B at the people coinfectées by the HIV and the VHB in Bamako.

**Year:** 2006 - 2007

**Countries of origin:** Mali

**Town of defence:** Bamako.

**Discharge point:** Library of the odonto-stomatology and pharmacy, faculty of medicine.

#### **Summary:**

The infectious hepatitis B is an liver's inflammation with sexual, blood, and parental transmission. Our study is an prospective and transversal investigation which has been done on benevolent blood donors admitted by the CNTS, and patients hospitalized inside the infectious diseases center of the Bamako point-G UHC from the 1<sup>st</sup> February 2006 to the 1<sup>st</sup> October 2006. The CNTS has served as blood samples treatment center. 93 subjects have been identified among which 31 hosts of the AgHBs+, tested through ELISA technique, 31 hosts of the AgHBs+/HIV+/AIDS- and 31 hosts of the AgHBs+/HIV/ AIDS+. Our investigation purpose was to evaluate the risk (probability) of the hepatic infection during a double infection of HBV/HIV. The prevalence of the AgHBe is figured to 12%; by the time of AgHBs+/HIV/AIDS hosts have developed the disease. It appears that for the patientce whose CD4+ rates were less than 200, (13,3%) and those whose rate were between 200-499 (12%).

The AchBs was present in 1,1% of the studied population and has been developed only in the hosts of AgHBs+/HIV+/AIDS+ with a rate of 3,2%. The hosts of AgHBs+/HIV+/AIDS- (12,9%) and the hosts of AgHBs+/HIV+/AIDS+( 22%).

The AchBc has been met in the majority of the study's subjects 95, 7%. But 100% of the hosts of only the AgHBs+ has developed the disease.

The prevalence of the AchBe, was 11,8% and the has been seen only in the hosts of the AgHBs+/HIV+/AIDS- 12% and 22,5% on the hosts of AgHBs+/HIV+/AIDS+; with a statistically meaningful difference.

The HIV-1 was most of the time incriminated and the host of this kind of HIV CD4+ rate was high.

## ***Serment de GALIEN :***

Je jure, en présence des maîtres de la faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

- d'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;
- d'exercer dans l'intérêt de la Santé Publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;
- de ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ;
- en aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.
- Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.
- Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

***Je le jure***