

Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique

REPUBLIQUE DU MALI
Un Peuple- Un But- Une Foi

UNIVERSITE DES SCIENCES DES TECHNIQUES ET DES
TECHNOLOGIES DE BAMAKO



FACULTE DE PHARMACIE



Année Universitaire : 2018-2019

N °.....

THESE

**PROFIL SEROLOGIQUE DU VIRUS DE
L'HEPATITE B AU LABORATOIRE D'ANALYSES
BIOMEDICALES DE L'HOPITAL DE SIKASSO**

Présentée et soutenue publiquement le 25 / 09 / 2019 devant le jury
de la Faculté de Pharmacie.

Par M. Drissa DIALLO

Pour l'obtention du Grade de Docteur en Pharmacie
(DIPLOME D'ETAT)

MEMBRES DU JURY

Président : Pr. Flabou BOUGOUDOGO

Membres : Dr. Ibréhima GUINDO

Dr. Madou TRAORE

Codirecteur : Dr. Oumar KASSOGUE

Directeur : Pr. Soukalo DAO

LISTE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTE

LISTE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTE DE PHARMACIE

ANNEE UNIVERSITAIRE 2018-2019

ADMINISTRATION

Doyen : Boubacar TRAORE, Professeur

Vice-doyen : Ababacar I. Maiga, Professeur

Secrétaire principal : Seydou COULIBALY, Administrateur Civil

Agent Comptable : Famalé DIONSAN, Contrôleur des Finances

LES PROFESSEURS HONORAIRES			
-----------------------------------	--	--	--

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Boubacar Sidiki	CISSE	Toxicologie
2	Mahamadou	CISSE	Biologie
3	Daouda	DIALLO	Chimie Générale et Minérale
4	Souleymane	DIALLO	Bactériologie/Virologie
5	Kaourou	DOUCOURE	Physiologie
6	Boukassoum	H Aidara	Législation
7	Moussa	HARAMA	Chimie Organique (décédé)
8	Gaoussou	KANOUTE	Chimie Analytique
9	Alou A.	KEITA	Galénique
10	Mamadou	KONE	Physiologie
11	Mamadou	KOUMARE	Pharmacognosie
12	Bréhima	KOUMARE	Bactériologie et Virologie
13	Abdourahamane S.	MAIGA	Parasitologie
14	Elimane	MARIKO	Pharmacologie

DER : SCIENCES BIOLOGIQUES ET MEDICALES

1. PROFESSEURS/DIRECTEURS DE RECHERCHES

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Ousmane	KOITA	Biologie/Moléculaire
2	Mounirou	BABY	Hématologie
3	Bakary Mamadou	CISSE	Biochimie
4	Abdoulaye	DABO	Biologie/Parasitologie
5	Alassane	DICKO	Santé Publique
6	Amagana	DOLO	Parasitologie-Mycologie
7	Boubacar	TRAORE	Parasitologie-Mycologie

2. MAITRES DE CONFERENCES /MAITRES DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Flabou	BOUGOUDOGO	Bactériologie-Virologie
2	Mahamadou	DIAKITE	Immunologie Généralistes
3	Abdoulaye	DJIMBE	Bactériologie-Virologie
4	Akory Ag	IKNANE	Santé Publique-Nutrition
5	Bourèma	KOURIBA	Immunologie Chef de DER
6	Ousmane	TOURE	Santé Publique/Santé Environnement

3. MAITRES ASSISTANTS/CHARGES DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Mohamed Ag	BARAIKA	Bactériologie
2	Charles	ARAMA	Immunologie
3	Seydou Sassou	COULIBALY	Biochimie Clinique
4	Djeneba Koumba	DABITAO	Biologie Moléculaire
5	Laurent	DEMBELE	Biotechnologie/Microbienne
6	Kléligui Kasimir	DEMBELE	Biochimie Clinique
7	Seydina S.A.	DIAKITE	Immunologie
8	Yaya	GOITA	Biochimie Clinique
9	Aldjouma	GUINDO	Hématologie
10	Ibrahima	GUINDO	Bactériologie-Virologie
11	Kassoum	KAYENTAO	Santé Publique-Bio statistique
12	Aminatou	KONE	Biologie Moléculaire
13	Birama apho	LY	Santé Publique
14	Dinkorma	OUOLOGUEM	Biologie Cellulaire
15	Issaka	SAGARA	Santé Publique-Bio statistique
16	Samba Adama	SANGARE	Bactériologie
17	Fanta	SANGHO	Santé Publique
18	Mahamadou S.	SISSOKO	Santé Publique-Bio statistique

4. ASSISTANTS/ATTACHES DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Mamadou Lamine	DIARRA	Botanique
2	Djénéba	COULIBALY	Nutrition/Diététique
3	Djibril Mamadou	COULIBALY	Biochimie Clinique
4	Souleymane	DAMA	Parasitologie Entomologie Médical
5	Issa	DIARRA	Immunologie
6	Fatou	DIAWARA	Epidémiologie
7	Merepen dit Agnès	GUINDO	Immunologie
8	Oumar	GUINDO	Epidémiologie
9	Falaye	KEITA	Santé Publique/Santé Environnement
10	N'Deye Lailah Nina	KOITE	Nutrition
11	Yacouba	MAIGA	Bio statistique
12	Amadou Birama	NIANGALY	Parasitologie-Mycologie
13	Oumar	SANGHO	Epidémiologie
14	Djakaridia	TRAORE	Hématologie

DER : SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1. PROFESSEURS /DIRECTEURS DE RECHERCHES

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Drissa	DIALLO	Pharmacognosie
2	Saïbou	MAIGA	Législation
3	Rokia	SANOGO	Pharmacognosie Chef de DER

2. MAITRES DE CONFERENCES/MAITRES DE RECHERCHES

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
-	Néant	-	-

3. MAITRES ASSISTANTS/CHARGES DE RECHERCHES

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Loséni	BENGALY	Pharmacie Hospitalière
2	Bakary M.	CISSE	Galénique
3	Yaya	COULIBALY	Législation
4	Adiaratou	TOGOLA	Pharmacognosie
5	Issa	COULIBALY	Gestion
6	Balla F.	COULIBALY	Pharmacie Hospitalière
7	Hama Boubacar	MAIGA	Galénique
8	Moussa	SANOGO	Gestion

4. ASSISTANTS/CHARGES DE RECHERCHES

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Seydou Lallaye	COULIBALY	Gestion Pharmaceutique
2	Antoine	DARA	Sciences Pharmaceutiques
3	Daouda Lassine	DEMBELE	Pharmacognosie
4	Adama	DENOU	Pharmacognosie
5	Mahamane	HAIDARA	Pharmacognosie
6	Assitan	KALOGA	Législation
7	Sékou	DOUMBIA	Pharmacognosie
8	Ahmed	MAIGA	Législation
9	Aichata Ben Adam	MARIKO	Galénique
10	Aboubacar	SANGHO	Législation
11	Bourama	TRAORE	Législation
12	Karim	TRAORE	Sciences Pharmaceutique
13	Sylvestre	TRAORE	Gestion Pharmaceutique
14	Aminata Tièba	TRAORE	Pharmacie Hospitalière
15	Mohamed dit Sarmoye	TRAORE	Pharmacie Hospitalière

DER : SCIENCES DU MEDICAMENT

1. PROFESSEURS/DIRECTEURS DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Ousmane	DOUMBIA	Pharmacie Chimique
2	Benoit Yaranga	KOUMARE	Chimie Analytique
3	Ababacar I.	MAIGA	Toxicologie

2. MAITRES DE CONFERENCES/MAITRES DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Sékou	BAH	Pharmacologie Chef DER

3. MAITRES ASSISTANTS/CHARGES DE RECHERCHE

N	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Dominique Patomo	ARAMA	Pharmacie Chimique
2	Ousmane	DEMBELE	Pharmacie Chimique
3	Mody	CISSE	Chimie Thérapeutique
4	Tidiane	DIALLO	Toxicologie
5	Hamadoun Abba	TOURE	Bromatologie

4. ASSISTANTS/ATTACHES DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Mahamadou	BALLO	Pharmacologie
2	Dalaye Bernadette	COULIBALY	Chimie Analytique
3	Blaise	DACKOOU	Chimie Analytique
4	Fatoumata	DAOU	Pharmacologie
5	Ousmane	DEMBELE	Chimie Thérapeutique
6	Abdourahamane	DIARA	Toxicologie-Bromatologie
7	Aiguerou dit Abdoulaye	GUINDO	Pharmacologie
8	Madani	MARIKO	Chimie Analytique
9	Mohamed El Béchir	NACO	Chimie Analytique
10	Mahamadou	TANDIA	Chimie Analytique
11	Dougoutigui	TANGARA	Chimie Analytique

DER : SCIENCES FONDAMENTALES

1. PROFESSEURS/DIRECTEURS DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Moctar	DIALLO	Biologie Chef de DER
2	Cheick F.	TRAORE	Biologie/Entomologie
3	Mahamadou	TRAORE	Génétique

2. MAITRES DE CONFERENCES/MAITRES DE RECHERCHEF

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Lassana	DOUMBIA	Chimie Appliquée

3. MAITRES ASSISTANTS/CHARGES DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Abdoulaye	KANTE	Anatomie
2	Boureima	KELLY	Physiologie Médical

4. ASSISTANTS/ATTACHES DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Seydou Simbo	DIAKITE	Chimie Organique
2	Modibo	DIALLO	Génétique
3	Moussa	KONE	Chimie Organique
4	Massiriba	KONE	Biologie-Entomologie

CHARGES DE COURS (VACATAIRES)

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Cheick Oumar	BAGAYOKO	Informatique
2	Babou	BAH	Anatomie
3	Abdourahamane	COULIBALY	Anthropologie Médicale
4	Souleymane	COULIBALY	Psychologie de la Santé
5	Bouba	DIARRA	Bactériologie
7	Modibo	DIARRA	Nutrition
8	Moussa I.	DIARRA	Biophysique
9	Babacar	DIOP	Chimie
10	Atimé	DJIMDE	Bromatologie
11	Yaya	KANE	Galénique
12	Boubacar	KANTE	Galénique
13	Aboubakary	MAIGA	Chimie Organique
14	Massambou	SACKO	SCMP/SIM
15	Modibo	SANGARE	Anglais
16	Sidi Boula	SISSOKO	Histologie-Embryologie
17	Mme Fatoumata	SOKONA	Hygiène du Milieu
18	Fana	TANGARA	Maths
19	Abdel Kader	TRAORE	Pathologies Médicales
20	Boubacar	ZIBEIROU	Physique



**DEDICACES ET
REMERCIEMENTS**

DEDICACES

Avant tout propos, louange à Dieu, Le Tout Puissant, Le Miséricordieux, Le Facilitateur, de m'avoir donné la force d'achever ce travail et aidé à dépasser toutes les difficultés que j'ai rencontrées.

Ce travail de thèse a été le labour de plusieurs mois et n'aurait jamais été mené à terme sans le soutien d'un grand nombre de personnes que je tiens très sincèrement à remercier.

A mes très chers parents

A qui je dois tout, et pour qui aucune dédicace ne saurait exprimer mon profond amour, ma gratitude, ni mon infinie reconnaissance pour l'ampleur des sacrifices et des souffrances que vous avez endurées pour mon éducation, pour mon bien être, vous n'avez jamais cessé de lutter. Vos prières et votre présence à mes côtés ont été pour moi d'un grand soutien moral tout au long de ma vie.

Puisse Dieu vous protéger, vous procurer longue vie, santé et bonheur afin que je puisse vous rendre un minimum de ce que je vous dois.

A mes frères et sœurs

Je vous dédie ce travail en témoignage d'amour, d'affection et de tendresse que j'ai à votre égard. Que nous puissions rester unis, fidèles et sincères à l'éducation que nous avons reçue. J'implore Allah, qu'Il vous apporte bonheur, prospérité et longévité.

A mon grand frère, conseiller, support, **Abdoul Karim** de m'avoir fait confiance, soutenu, encouragé durant mes cursus scolaires, puisse Dieu vous le rendre par meilleur cher aîné car je ne pourrais vous remercier assez.

A ma feuë grande sœur, **Mariam**, et mes feus grands frères, **Daouda** et **Amadou** et mon jeune frère, **Diakaridia**, j'aurai tant aimé que vous soyez un témoin de ce travail, reposer en paix chers frères et sœur.

A mon jeune frère **Toumani**, merci pour les mets pendant mes gardes et tout le reste.

A docteur **Diallo Bakary**, cher frère et premier docteur de la famille, ce travail est le vôtre et merci pour tout.

A toute la famille en Côte d'Ivoire, ce travail est le fruit de vos bénédictions et bonne foi aussi lointaines soient-elles.

A la famille TOGOLA au Sekoubougouni

Je ne peux que supplier l'Omniscient de vous bénir et gratifier pour tout ce que vous avez fait pour moi inconditionnellement en m'acceptant comme l'un des vôtres durant mes parcours estudiantins. Retrouvé dans ce document, mes sincères reconnaissances.

A cet enseignant au lycée, soucieux pour la réussite de ses élèves, cher maître **COULIBALY Yacouba**, merci pour votre assistance dans la prise de décision de la filière pharmaceutique et tout ce que vous avez fait à mon égard et puisse Dieu vous donner longue vie.

A toute la 10^{ème} promotion du numéris clausus.

Merci pour vos soutiens et pour ces moments agréables et inoubliables passés ensemble.

Bonne carrière professionnelle à tous. Amicalement !

A ma complice, binôme, amie et sœur, **Fatoumata Toumani KONE dite Fatim**, que nos liens se fortifient de plus et merci infiniment pour ces moments de folies, ta gentillesse et ton humanisme. Sache que ta croisade fut un grand soutien pour moi, et « djo » aide moi à être reconnaissant envers « kôrô » Sylla pour son soutien sans faille et inconditionnel.

A mes ami(e)s

DIOP Ibrahim, COULIBALY Balla, KEITA Abdoulaye, MARIKO Alhassane, KONATE Kadidia, COULIBALY Oumar, TRAORE Habib, SANGHO Aissata Agna, OUANE Aissata Assou, TOURE Bilal, Baini, TRAORE Cheick O dit « DEV », KONE Tenin dite « TK », SANOGO Djibril, Dr OUATTARA Salifou.

En souvenir de nos sincère et profonde amitié et des moments agréables que nous avons passés ensemble, veuillez trouver dans ce travail l'expression de mon respect le plus profond et mon affection la plus sincère.

A mes cousines et cousins

Vos encouragements et vos bénédictions ont été d'un apport capital dans la réussite de mon cursus universitaire, mes sincères remerciements.

Aux personnels du service de laboratoire / banque de sang de l'hôpital de Sikasso

Merci pour les expériences partagées.

A tout le personnel de l'officine « **Mieux Vivre Sikasso** », merci pour l'accueil chaleureux.

A mes collègues internes de l'hôpital de Sikasso.

A tous mes enseignants durant mon parcours scolaire et étudiantin : ce travail est le fruit de la formation de qualité que vous m'avez inculquée.

Je voudrais en fin exprimer ma sincère reconnaissance envers toutes les personnes qui m'ont aidé tout au long de ce travail pour leur sympathie, aide et encouragement.

A tous ceux qui me sont chers et que j'ai omis de citer, ce travail est le vôtre.

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier le Professeur **DAO Sounkalo**, Professeur à la Faculté de Médecine et d'Odontostomatologie de Bamako, chef de service des maladies infectieuses du CHU du Point G, qui m'a encadré et fait partager ses brillantes intuitions.

Je remercie Docteur **KASSOGUE Oumar**, chef de service du laboratoire de l'hôpital de Sikasso. C'est à ses côtés que j'ai appris ce que rigueur et précision signifiaient. Qu'il soit aussi remercié pour sa gentillesse, sa disponibilité permanente et pour les nombreux encouragements qu'il m'a prodigué.

J'adresse mes remerciements à Docteur **GUINDO Soumaila**, pour l'encadrement et le soutien.

Je tiens aussi à remercier Docteur **TRAORE Madou**, infectiologue et chef de service de la médecine de l'hôpital de Sikasso, pour ses relectures et contributions sans failles. Sois-en remercié cher maître pour les prodiges astuces et pour votre amabilité.

Merci aussi à Docteur **KONE Kadidia épouse SAADE** pour l'apport littéraire et le soutien.

Un grand merci à Mme **THIERO Fatoumata TRAORE dite « Titi »**, pour son assistance logistique dans les statistiques.

Enfin, je tiens à remercier tous les patients ou accompagnateurs, qui ont répondu avec calme et patience aux questions quotidiennes dont je les accablais.

Un grand merci aussi à tous les personnels du laboratoire en particulier et de l'hôpital en général.



**HOMMAGES AUX
MEMBRES DU JURY**

HOMMAGES AUX MEMBRES DU JURY

A notre maître et président du jury

Professeur Flabou BOUGOUDOGO.

- ◆ **Pharmacien microbiologiste ;**
- ◆ **Maître de Conférences Agrégé en Bactériologie-Virologie à la Faculté de Pharmacie ;**
- ◆ **Directeur de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP : 2002-2012) ;**
- ◆ **Chevalier de l'Ordre du Mérite de la Santé.**

Cher maître,

Nous sommes très honorés de vous avoir comme président du jury de notre thèse.

Toutes les dédicaces à votre endroit ne sauraient suffire pour vous exprimer aujourd'hui toute notre reconnaissance.

Nous vous sommes très reconnaissants de la spontanéité et de l'amabilité avec lesquelles vous avez accepté de juger notre travail.

Veillez croire, cher maître, à l'assurance de notre respect et de notre reconnaissance.

Puisse Dieu vous combler de sa grâce.

A notre maître et juge

Docteur Ibréhima GUINDO.

- ◆ **Pharmacien biologiste au service de Bactériologie-Virologie de l'INRSP ;**
- ◆ **Responsable du laboratoire de Bactériologie-Virologie de l'INRSP ;**
- ◆ **Maître assistant en Bactériologie-Virologie à la Faculté de Pharmacie de Bamako ;**
- ◆ **Point focal de la Résistance aux Antimicrobiens (RAM).**

Cher maître,

Nous avons été très touchés par votre accueil simpliste et la générosité dont vous avez fait preuve en acceptant ce document de thèse.

Nous ne saurions vous remercier assez pour cet honneur.

Puisse Le Tout Puissant guider vos pas vers une agrégation honorable et vous assister dans vos projets.

A notre maître et juge

Docteur Madou TRAORE

- ◆ **Médecin infectiologue à l'hôpital de Sikasso,**
- ◆ **Chef de service de la médecine à l'hôpital de Sikasso,**
- ◆ **Point focal VIH à l'hôpital de Sikasso,**
- ◆ **Chargé de recherche en maladies infectieuses et tropicales à l'hôpital de Sikasso,**
- ◆ **Détenteur d'un DU de prise en charge de la Drépanocytose.**
- ◆ **Ancien interne des hôpitaux de Marseille.**

Cher maître,

Nous avons été très touchés par votre accueil et la disponibilité dont vous avez fait preuve à notre égard.

Nous fûmes émus par votre humilité, votre sens de l'humour et la franche collaboration tout au long de ce travail.

A travers ce travail, recevez cher maître notre immense reconnaissance.

Puisse l'Être Suprême vous assister à réaliser vos projets et merci pour tout.

A notre maître et co-directeur de thèse

Docteur Oumar KASSOGUE.

- ◆ **Pharmacien biologiste.**
- ◆ **Chef de service du laboratoire / banque de sang de l'hôpital de Sikasso.**
- ◆ **Chargé de recherche en biologie.**
- ◆ **Secrétaire général de l'ordre des pharmaciens de la région de Sikasso.**

Cher maître,

En acceptant de diriger ce travail, nous nous estimons chanceux de profiter de votre enseignement, votre amour pour le travail bien fait et surtout votre rigueur et votre précision dans le travail.

De pas à pas, prompt à répondre à toutes nos préoccupations, lentement, sûrement mais surtout avec rigueur.

Votre grande humilité et votre dévouement sont quelques-unes de vos qualités qui nous ont marqués.

Nos mots ne seront jamais assez bien choisis pour vous témoigner combien est grande notre admiration pour vous.

A notre maître et directeur de thèse

Professeur Sounkalo DAO.

- ◆ **Professeur titulaire de Maladies Infectieuses à la FMOS**
- ◆ **Ex Chef de DER en médecine à la FMOS**
- ◆ **Responsable de l'Enseignement des Maladies Infectieuses à la FMOS**
- ◆ **Investigateur Clinique au Centre de Recherche et de Formation sur le VIH et la Tuberculose : UCRL/FMOS/NIAD**
- ◆ **Président de la Société Malienne de Pathologie Infectieuse et Tropicale (SOMAPIT)**
- ◆ **Membre de la Société Africaine de Pathologie Infectieuse (SAPI)**
- ◆ **Membre de la Société Française de Pathologie Infectieuse et Tropicale (SFPIT)**
- ◆ **Membre du Collège Ouest Africain des Médecins (WACF)**
- ◆ **Coordinateur du DES Maladies Infectieuses au Mali**

Cher maître,

En acceptant de diriger ce travail, nous avons pris conscience de la confiance que vous avez placée en nous.

Votre amour du travail bien fait, votre culture de l'excellence et votre souci de transmettre, vous somment d'un excellent pédagogue.

Votre humilité, votre simplicité et votre humanisme font de vous un homme respectueux et d'une immense grandeur.

Nous sommes ainsi très honorés de nous compter parmi vos étudiants.

Cher maître, veuillez recevoir en toute modestie, l'expression de notre immense gratitude.



LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS

LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS

µl	Microlitre
Ac anti-HBc IgM	Anticorps du core viral de type aigue
Ac anti-HBc	Anticorps de la capside (ou du core) virale
Ac anti-HBs	Anticorps de la surface virale "s"
ADN	Acide désoxyribonucléique
AgHBc	Antigène du core viral ou de la capside virale "c"
AgHBe	Antigène de l'enveloppe virale "e"
AgHBs	Antigène de surface du virus
ALAT	Alanine aminotransférase
ARNm	Acide ribonucléique messenger
ASAT	Aspartate aminotransférase
AuAg	Australian antigen
CDC	Centers for disease control and prevention
CHC	Carcinome hépatocellulaire
CNTS	Centre national de transfusion sanguine
Cryo-EM	Cryo-microscopie électronique
CSCom	Centre de santé communautaire
CSRéf	Centre de santé de référence
ELISA	Enzyme linked immuno-sorbent assay
Gamma GT	Gamma glutamyltransférase
IgG	Immunoglobuline de type G (ancien)
IgM	Immunoglobuline de type M (aigue ou récente)
INRSP	Institut national de recherche en santé publique
IST	Infection sexuellement transmissible
kb	Kilobase
ml	Millilitre
MLE	Master lot entry
mUI	Milli unité internationale
ng	Nanogramme
nm	Nanomètre
OMS	Organisation mondiale de la santé
PCR	Polymerase chain reaction

PEI	Paul Erlich Institute
PVVHB	Personnes vivant avec le virus de l'hépatite B
RFV	Relative fluorescence value
TDR	Test de diagnostic rapide
VHB	Virus de l'hépatite B
VHC	Virus de l'hépatite C
VIH	Virus de l'immunodéficience humaine
WHO	World health organization

TABLES DES ILLUSTRATIONS

Liste des figures

Figure 1 : Modèle du virus de l'hépatite B (particule de Dane) et des particules d'HBsAg filamenteuses ou sphériques	7
Figure 2 : Structure du virus de l'hépatite B	9
Figure 3 : Distribution géographique des géotypes de l'hépatite B	10
Figure 4 : Cycle de vie du VHB	11
Figure 5 : Histoire naturelle de l'infection par le VHB chez l'adulte	17
Figure 6 : Représentation schématique de l'évolution des infections aiguës par le VHB avec résolution	18
Figure 7 : Evolution des marqueurs viraux de l'infection à l'hépatite virale B	19
Figure 8 : Carte de la région de Sikasso (Source : Carte topographique Mali-IGN 1970)	26
Figure 9 : L'automate MiniVIDAS® Blue BioMérieux	33
Figure 10 : Fréquence de portage de l'AgHBs.....	42

Liste des tableaux

Tableau I : Les ressources humaines du laboratoire / banque de sang (Source : organigramme de l'hôpital).....	28
Tableau II : Performances analytiques des TDR pour la détection de l'AgHBs [50].....	33
Tableau III : Répartition des patients selon le sexe.	39
Tableau IV : Répartition des patients selon la tranche d'âge.	39
Tableau V : Répartition des patients selon l'ethnie.....	40
Tableau VI : Répartition des patients selon le niveau scolaire.	40
Tableau VII : Répartition des patients selon la profession.....	41
Tableau VIII : Répartition des patients selon le statut matrimonial.	41
Tableau IX : Répartition des patients selon la résidence.....	42
Tableau X : Fréquence de portage des anticorps anti-HBc totaux.....	43
Tableau XI : Fréquence de portage de l'antigène HBe.	43
Tableau XII : Répartition de l'antigène HBs+ selon le sexe.	43
Tableau XIII : Répartition de l'antigène HBs+ selon le statut matrimonial.	44
Tableau XIV : Répartition de l'antigène HBs+ selon la résidence.	44
Tableau XV : Répartition de l'antigène HBs+ selon le niveau scolaire.....	44

Tableau XVI : Répartition de l'antigène HBs+ selon la tranche d'âge.....45
Tableau XVII : Répartition de l'antigène HBs+ selon la profession.45
Tableau XVIII : Répartition des anticorps anti-HBc totaux selon la tranche d'âge.....46
Tableau XIX : Répartition des anticorps anti-HBc totaux selon le sexe.....46

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	1
I. OBJECTIFS	5
II. GENERALITES	7
1. Historique	7
2. Caractéristiques	8
2.1. Classification	8
2.2. Caractères physico-chimiques	8
2.3. Caractères antigéniques	10
2.4. Multiplication virale	11
3. Epidémiologie	12
3.1. Prévalence	12
3.2. Les données au Mali	13
4. Mode de transmission et populations exposées	13
4.1. Mode de transmission	13
4.2. Populations exposées	15
5. Marqueurs biologiques	15
5.1. Les marqueurs	15
5.2. Les profils sérologiques des tableaux cliniques	17
6. Prévention & traitement	20
6.1. Prévention	20
6.2. Traitement	22
III. METHODOLOGIE	26
IV. RESULTATS	39
1. Résultats descriptifs	39
2. Résultats analytiques	42
V. COMMENTAIRES ET DISCUSSIONS	48
1. Méthodologie	48
2. Résultats	48
VI. CONCLUSION & RECOMMANDATIONS	53
1. Conclusion	53
2. Recommandations	53
VII. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	55
VIII. ANNEXES	60

INTRODUCTION

INTRODUCTION

L'hépatite virale B (VHB) est un problème majeur de santé publique. L'Organisation Mondiale de la Santé estime que 30 % de la population mondiale est séropositive, soit environ 2 milliards de personnes infectées à travers le monde [1].

Dans un rapport de 2017 de l'OMS, le nombre de personnes atteintes d'une infection chronique par le virus de l'hépatite B (VHB) était estimé à 257 millions, soit 3,5% de la population mondiale. Les taux les plus élevés sont retrouvés dans les régions africaine et du pacifique occidental [2].

Parmi les porteurs chroniques, le nombre de décès lié aux complications (cirrhose ou carcinome hépatocellulaire) du VHB est estimé à 500 000 personnes. Le virus de l'hépatite B occupe la deuxième position juste derrière le tabac, en tant que cancérigène humain reconnu [1].

En Afrique, cette infection évoque un problème de santé publique de part, sa fréquence, ses complications et ses séquelles socio-épidémiologiques.

L'Afrique subsaharienne, avec un taux de prévalence compris entre 8% et 18%, constitue une zone de haute endémicité. Dans cette région, le VHB est la principale cause de cirrhose et de carcinome hépatocellulaire. Ces affections sont responsables d'une mortalité élevée malgré l'existence d'un vaccin efficace contre ce virus [3].

L'épidémiologie de l'infection par le VHB en Afrique est difficile à apprécier car la plupart des études n'ont recherché que l'AgHBs et le plus souvent sur des populations limitées.

Au Mali, 69 % de la population sont porteurs des anticorps anti-HBc totaux et 13,5 % ont à la fois l'AgHBs et l'anticorps anti-HBc [3].

Dans une étude publiée en 2001 par « *Bull Soc Pathol Exot* », 97,2 % de la population testée avaient au moins un marqueur sérique du VHB et l'AgHBs était présent chez 9,4% des porteurs de l'AgHBs [4].

Une étude menée au Mali à l'INRSP par **BOUGOUDO** et coll. rapporte une prévalence de l'AgHBs estimée à 14,7% [3].

La prévalence était chez les donneurs de sang à 13,84% (CNTS). En milieu scolaire, chez les enfants de 0 à 15 ans, elle était de 15,8% et dans la population du personnel sanitaire, elle était de 10% [3].

Dans une étude menée en 2006, chez les scolaires âgés de 15 à 25 ans, la prévalence de l'antigène HBs dans la région de Sikasso était de 23,15% [5].

Dans la même localité, chez les donneurs de sang, le taux de prévalence était de 15,3% [6].

Le virus de l'hépatite B (VHB) est 50 à 100 fois plus contaminant que le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) [7].

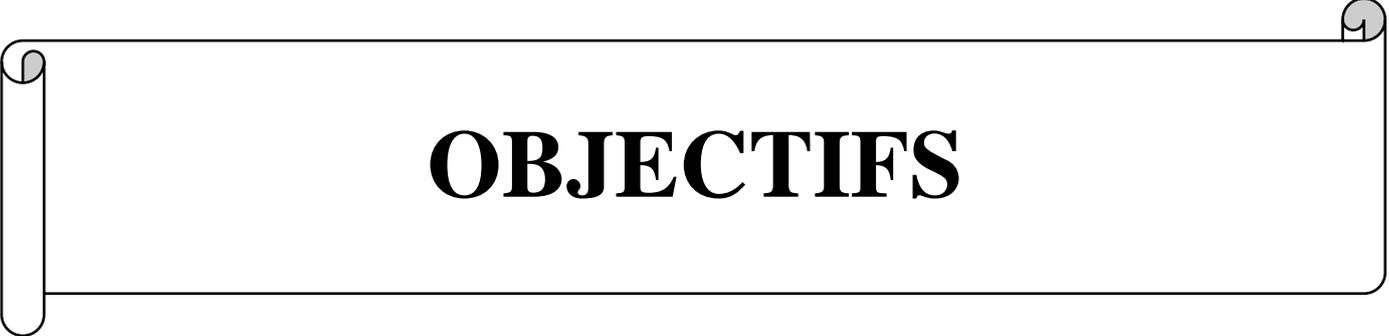
L'immense majorité des personnes infectées n'ont pas connaissance de leur état de séropositivité, faute de dépistage. Le grave problème de santé publique que représentent les hépatites au Mali est ainsi très largement sous-estimé.

La meilleure connaissance des différents aspects épidémiocliniques de la maladie devrait permettre de réduire le taux d'infectivité d'où la nécessité de mener cette étude pour savoir :

Quel est le profil sérologique des personnes vivant avec le virus de l'hépatite B (PV-VHB) à l'hôpital de Sikasso ?

La fréquence hospitalière de l'antigène HBs est-elle plus élevée à Sikasso ?

Y a-t-il une relation entre le profil sérologique et les données sociodémographiques ?



OBJECTIFS

I. OBJECTIFS

1. Objectif général

Evaluer la prévalence des marqueurs sérologiques du VHB au laboratoire de l'hôpital de Sikasso.

2. Objectifs spécifiques

- Décrire le profil sociodémographique des personnes portant l'AgHBs, l'AgHBe et les anticorps anti-HBc totaux ;
- Déterminer la fréquence de portage de l'antigène HBs dans la population étudiée ;
- Décrire le profil de l'antigène HBe chez les porteurs d'AgHBs ;

GENERALITES

II. GENERALITES

1. Historique

L'histoire des hépatites remonte à 5 siècles avant Jésus Christ.

En 1964, un nouvel antigène (dit antigène Australien) est détecté dans le sérum d'un aborigène australien par Baruch S Blumberg, très rapidement, son équipe et Alfred M Prince montrent que cet antigène est un marqueur d'une hépatite virale post-transfusionnelle, dite hépatite B [8].

➤ Découverte de la particule de Dane [9].

L'antigène australien (AuAg) n'était pas un agent ressemblant à un prion. C'est en inspectant les complexes immuns AuAg sous le microscope électronique en 1970, David S. Dane a découvert que cet antigène apparaissait non seulement sur les petites particules pléomorphes, mais aussi sur des objets de plus grande taille ressemblant à des virus de 42 nm avec un noyau interne clairement visible. Peu de temps après, en 1971, son collègue britannique June Almeida réussit à libérer les particules de base « particules de Dane » par traitement avec un détergent doux. Ceci suggérait fortement que les particules de Dane étaient le vrai virus causant l'hépatite B. AuAg était évidemment l'antigène de surface de l'enveloppe virale, et fut ensuite nommé HBsAg (s pour surface). Par la suite, l'hépatite virale de type B est devenue une force motrice pour le développement de diagnostics et de vaccins viraux modernes.

Parmi les problèmes qui subsistent aujourd'hui figurent l'impossibilité de guérir complètement les infections chroniques par le VHB et la protection incomplète contre les mutants de fuite et les génotypes hétérologues du VHB par les vaccins anti-VHB.

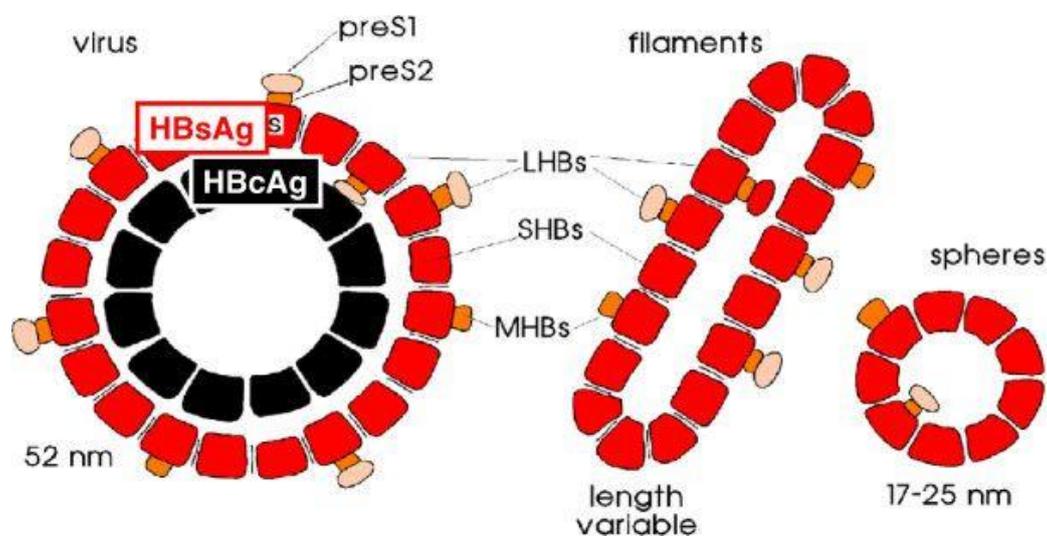


Figure 1 : Modèle du virus de l'hépatite B (particule de Dane) et des particules d'HBsAg filamenteuses ou sphériques [9].

Dane a décrit le virus comme une particule de 42 nm, mais dans la coloration négative, les domaines externes préS1 et préS2 n'étaient pas visibles. 52 nm est le diamètre hydrodynamique (Ch. Schüttler et W. Gerlich, non publié) et également mesuré par la cryo-microscopie électronique (cryo-EM) comme diamètre extérieur. La protéine HBsAg se présente sous trois formes : une grande protéine (L-) HBs avec le domaine préS1, préS2 et S, une protéine intermédiaire (M-) sans préS1 et des SHB sans préS1 et préS2 [9].

2. Caractéristiques

2.1. Classification

Le virus de l'hépatite B est un virus à ADN, circulaire dont une partie est à double brin partiel de 3,2 kb et l'autre partie à simple brin. Le VHB appartient à la famille des *Hepadnaviridae*, au genre *orthohepadnavirus* et à l'espèce *Hepatitis B virus*. C'est un virus enveloppé qui, comparativement aux virus enveloppés, est très résistant. [10].

2.2. Caractères physico-chimiques

2.2.1. Structure virale

L'étude structurale du VHB a montrée trois (03) sortes de particules qui sont :

- **Le virus entier**, son diamètre est de 42 nm, appelé particule de Dane, c'est un virus enveloppé et polymorphe ayant une capsid de symétrie icosaédrique. La particule de Dane circule dans le sang à des concentrations aussi élevées que 10^8 virions par ml. Cameron a montré que les particules de 42nm étaient plus denses que les autres particules et pourraient donc contenir de l'acide nucléique en apparence [8, 10, 11, 12].
- **Une particule** de 22nm de diamètre représentant l'enveloppe virale lipoprotéique déversée en excès dans le sang sans capsid ni génome. Ces particules peuvent atteindre 10^9 virions par ml.
- **Des formes tubulaires** de 20 nm de diamètre correspondent aussi à un excès d'enveloppes virales [13].

Le VHB est résistant au refroidissement jusqu'à -20°C pendant plusieurs années, au chauffage jusqu'à 56°C durant 24h. Cependant, chauffé de 85 à 100°C , il perd ses propriétés antigéniques (ce qui ne correspond pas à la perte de la virulence) pendant plusieurs minutes. Le virus perd son activité sous l'action du phénol à 3-5% et de la chloramine 3%. Il résiste dans le milieu extérieur sept (07) jours environ et n'est pas inactivé par l'alcool ni l'éther. La particule de Dane est la seule infectieuse [14].

2.2.2. Organisation génomique

Le génome formé d'environ 3,2kb est reparti en 4 gènes principaux : [15, 16]

- PréS/S codant 3 protéines de surface : S est la protéine majeure, PréS2/S est la protéine moyenne et PréS1/PréS2/S est la grande protéine.
- PréC/C codant la protéine core (l'AgHBe et l'AgHBc). En pratique clinique, les mutants préC sont les plus fréquemment rencontrés. Il s'agit soit des mutations introduisant un codon stop dans la région préC en position 1896, à l'origine de l'arrêt de la synthèse de l'AgHBe, soit des mutations dans le promoteur préC, à l'origine d'une diminution de l'expression de l'AgHBe. Ces 2 profils correspondent donc aux infections par des variants négatifs pour l'AgHBe.
- Pol codant la polymérase virale, qui possède également une activité transcriptase inverse.
- X codant la protéine X, qui joue un rôle transactivateur sur des oncogènes cellulaires.

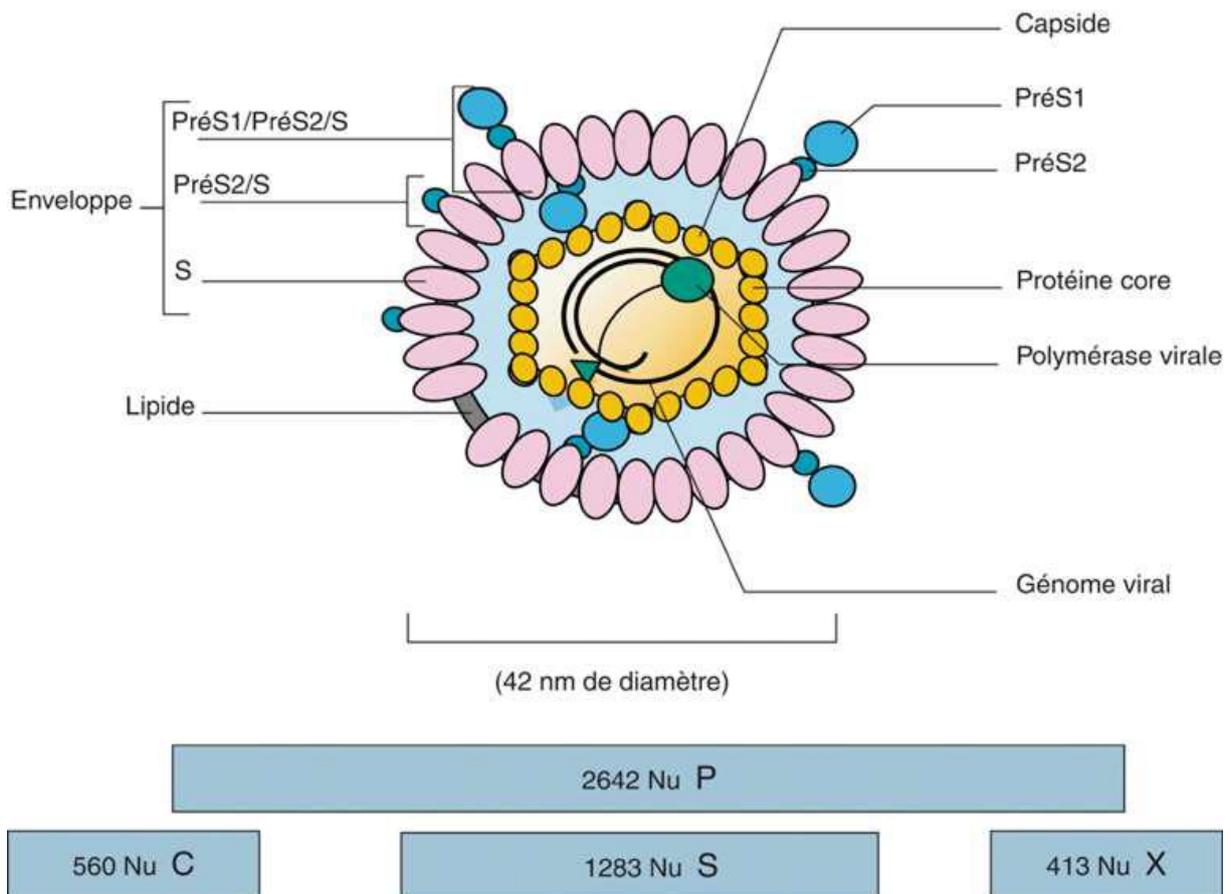


Figure 2 : Structure du virus de l'hépatite B [17].

Le VHB est un virus enveloppé à capsidre icosaédrique. Son enveloppe externe lipoprotéique est uniquement formée de protéine de surface s [17].

Aujourd'hui, le génotypage du VHB est le plus souvent réalisé pour caractériser le VHB, soit par séquençage direct du génome viral, soit par des tests commerciaux fondés sur l'hybridation moléculaire [18].

Huit génotypes de VHB, d'A à H, sont actuellement connus et se distinguent par leur distribution géographique.



Figure 3 : Distribution géographique des génotypes de l'hépatite B [17].

Plus la lettre est grande, plus la présence du génotype dans cette région est importante.

2.3. Caractères antigéniques

Le VHB est constitué d'un certain nombre de protéines virales d'intérêt clinique, notamment les protéines d'enveloppe, l'antigène de surface du VHB (AgHBs), l'antigène nucléocapsidique (AgHBc) et une protéine soluble de la nucléocapside, l'antigène 'e' du virus (AgHBe) [11].

2.4. Multiplication virale

Le cycle de réplication du VHB est très complexe.

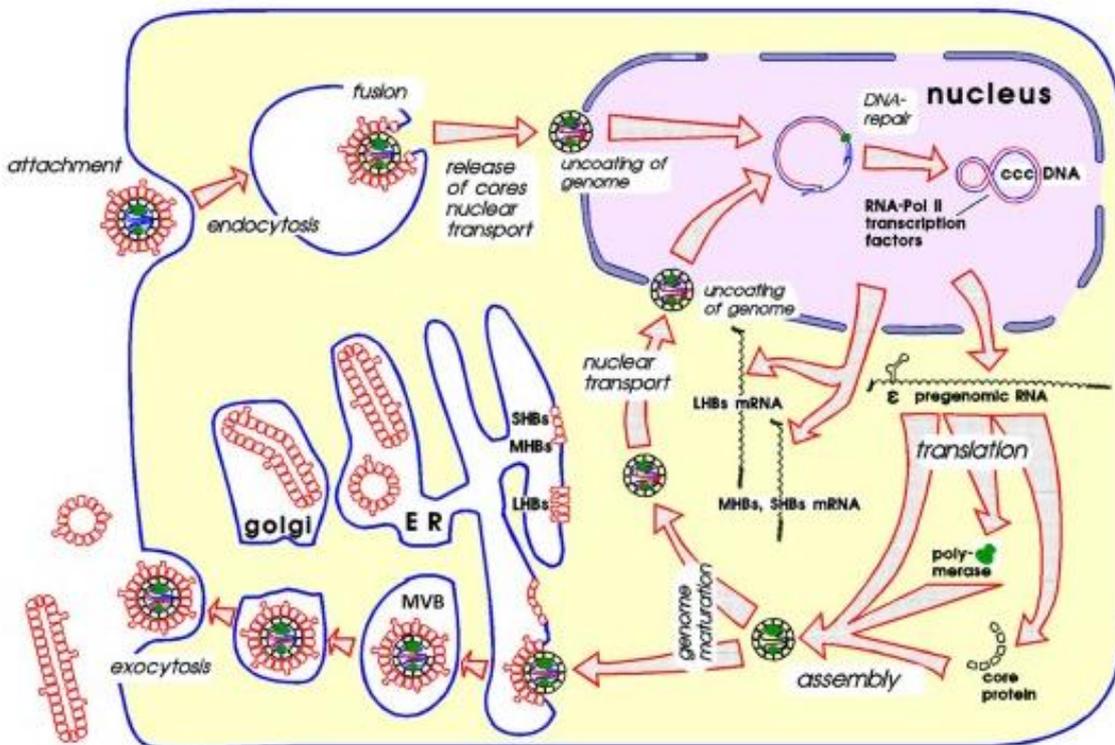


Figure 4 : Cycle de vie du VHB [9].

L'attachement à des récepteurs spécifiques du foie conduit à l'endocytose du VHB et à la libération de particules de base du VHB. Ceux-ci sont transportés vers le noyau et arrêtés au complexe de pores nucléaires où le génome du VHB est libéré dans le noyau. Dans le noyau, l'ADN viral est « réparé » à la fermeture covalente ADN circulaire et complexé avec des nucléosomes. En interaction avec des facteurs de transcription, cet ADN est transcrit dans les ARNm pré-génomiques et subgénomiques. Les ARNm sont transportés, principalement sans épissure, dans le cytoplasme. Les deux ARNm sous-génomiques pour les trois protéines HBs sont traduits au niveau du réticulum endoplasmique, s'assemblent en particules AgHBs subvirales et sont sécrétés via l'appareil de golgi.

En parallèle, l'ARNm pré-génomique est traduit dans le cytosol en la protéine centrale du VHB et la polymérase virale, les trois composants s'assemblant à la particule de noyau immature. Les génomes du VHB mûrissent au sein des particules centrales par transcription inverse de l'ARNm pré-génomique en ADN. Les particules de noyau matures peuvent migrer à nouveau vers le complexe de pores nucléaires où sont enveloppées par les protéines de surface et sécrétées par les corps multivésiculaires [9].

3. Epidémiologie

3.1. Prévalence

L'hépatite B chronique est une des affections les plus répandues dans le monde, elle touche 257 millions, soit 3,5% de la population mondiale [2].

Sa répartition est inégale. La prévalence varie de 0,1% à 18% selon les zones géographiques de sorte que l'OMS en distingue trois, avec des modes de transmissions et des niveaux de risques différents.

3.1.1. Les zones de forte endémie

L'infection à VHB est la plus répandue en Asie, en Afrique, dans le Sud de l'Europe et en Amérique latine où la proportion de porteurs de l'AgHBs dans la population générale varie entre 2 et 20 %. Dans ces régions, l'infection à VHB frappe surtout les enfants et les jeunes nourrissons [10, 11].

Ces zones sont :

- L'Afrique subsaharienne,
- La Chine,
- L'Asie du Sud-Est,
- Certains pays du Moyen Orient et d'Europe de l'Est,
- Le bassin amazonien, l'Alaska, le nord du Canada et certaines parties du Groenland,
- La plupart des îles Pacifiques (exceptés l'Australie, la Nouvelle-Zélande et le Japon) [19].

Dans ces zones sus citées, la prévalence varie entre 8 et 20%.

3.1.2. Les zones de moyenne endémie

2 à 8 % de la population présente une infection chronique.

Ce sont :

- L'Europe de l'Est, l'ex-URSS,
- L'Afrique du Nord, le bassin méditerranéen,
- Le Proche-Orient, l'Inde et certaines régions d'Amérique Centrale et du Sud [20, 21].

3.1.3. Les zones de faible endémie

Moins de 2% de la population présente une infection chronique.

Ce sont :

- L'Europe du Nord et de l'Ouest,
- L'Amérique du Nord, l'Australie,
- Une partie de l'Amérique du Sud, le Japon [20].

Selon l'OMS 88% de la population mondiale vivrait dans des zones de forte (45%) et de moyenne endémie (43%). De manière générale, l'incidence et la prévalence sont inversement proportionnelles au niveau socioéconomique [22].

Selon l'OMS, les niveaux d'hépatite B varient grandement selon ses régions, le fardeau étant le plus lourd dans la région africaine et dans la région du pacifique occidental.

- Région du pacifique occidental : 6,2% de la population (115 millions)
- Région africaine : 6,1% de la population (60 millions)
- Région de la méditerranée orientale : 3,3% de la population (21 millions)
- Région de l'Asie du Sud-Est : 2% de la population (39 millions)
- Région européenne : 1,6% de la population (15 millions)
- Région des Amériques : 0,7% de la population (7 millions) [23].

3.2. Les données au Mali

Au Mali, 69 % de la population sont porteurs de l'anticorps anti-HBc totaux et 13,5 % ont à la fois l'Ag HBs et l'anticorps anti-HBc [3].

4. Mode de transmission et populations exposées

4.1. Mode de transmission

La contagiosité du VHB est liée à sa présence dans la plupart des liquides biologiques des sujets infectés : le sang (10^8 à 10^9 virions par millilitre), le sperme et les sécrétions vaginales (10^6 à 10^7 par millilitre), la salive (10^5 à 10^7 par millilitre), et à un titre plus faible dans le lait maternel et les urines.

Cette contagiosité est également liée à la résistance du virus dans le milieu extérieur et à sa capacité de garder son pouvoir infectieux pendant plus de 7 jours à température ambiante [24, 25].

Le VHB est transmis par exposition percutanée ou muqueuse à du sang ou à d'autres liquides organiques infectés. La transmission du VHB a été observée avec de nombreuses formes de contact humain : périnatal / maternel, ménage (non sexuel), sexuel, le partage d'aiguilles et professionnels. Il est important de préciser que la source de l'infection n'est pas identifiée dans 35% des cas [20].

4.1.1. Transmission sexuelle

Le VHB se transmet très facilement par des rapports non protégés avec une personne porteuse de l'AgHBs du VHB.

Le risque de contamination par voie sexuelle peut varier de 30 à 80%, il augmente avec le nombre de partenaires sexuels, les années d'activité sexuelle, les autres IST et le type de rapports notamment les rapports anaux réceptifs [26].

Dans son étude, **SACKO M** rapporte que chez les professionnels du sexe et les homosexuels, le risque de portage de l'AgHBs augmente avec le nombre de partenaires [27].

4.1.2. Transmission parentérale

Le VHB peut se transmettre chez les usagers de drogue, par voie intraveineuse ou per-nasale, lors de l'échange de matériel infecté.

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

- des injections administrées avec des aiguilles ou des seringues réutilisées sans stérilisation,
- contact des muqueuses avec du matériel souillé insuffisamment décontaminé,
- la chirurgie et l'hémodialyse.
- l'administration de produits sanguins dans les pays où aucun dépistage de l'Ag HBs n'est pratiqué sur les dons de sang. Dans les pays développés, malgré les tests, il y a 2 à 16 cas de transmission par million d'unités de sang, [26].
- le risque professionnel : ce mode de transmission peut toucher le personnel soignant, lors d'accident d'exposition au sang. Le risque d'hépatite post-transfusionnelle était proportionnel au nombre d'unités de sang transfusées. Actuellement le dépistage du portage du VHB dans les centres de transfusion et l'utilisation de matériel à usage unique ont permis de diminuer ce risque [28].

Les piercings et les tatouages pratiqués sans respect des règles de stérilisation du matériel utilisé, peuvent constituer un mode de transmission d'individu à individu.

4.1.3. Transmission horizontale

Elle se produit par des contacts étroits avec des porteurs chroniques au sein de la famille ou en collectivité. Elle résulte le plus souvent du contact de lésions cutanées ou muqueuses avec du sang contaminé ou le partage d'objets tels que la brosse à dents, le rasoir, etc.

4.1.4. Transmission périnatale

La transmission périnatale de mère atteinte d'une infection chronique à son nouveau-né se produit habituellement au moment de la naissance. La transmission in utéro est relativement rare et représente moins de 2% des infections périnatales dans la plupart des études. Rien n'indique que le VHB se transmette par l'allaitement maternel [20].

Si une femme est porteuse de l'AgHBe, il y a 90% de risque que l'enfant soit infecté et devienne porteur, dont 25% mourront de maladie hépatique, si l'AgHBe est négatif, il y a 10 à 20 % de risque de transmission [24, 29, 30].

La prévalence de l'AgHBe chez les mères porteuses d'AgHBs est plus importante en Asie (40%) qu'en Afrique (15%) [29].

Les enfants nés de mère AgHBs positif n'ayant pas été infectés pendant la période périnatale ont un haut risque d'infection durant l'enfance. Dans une étude, 40 à 60% des enfants nés d'une mère AgHBs positif et AgHBe négatif, ont été contaminés avant l'âge de 5 ans [31, 32].

4.2. Populations exposées

Elles sont composées de :

- Nouveau-nés de mères séropositives pour le VHB ;
- Usagers de drogues par voie parentérale (intraveineux ou per-nasal) ;
- Personnes hétérosexuelles ou homosexuelles ayant des partenaires sexuels multiples et/ou une maladie sexuelle transmissible récente ;
- Personnes en contact avec un sujet porteur de l'AgHBs (en famille ou en collectivité) ;
- Professionnels de santé ;
- Patients hémodialysés ou transfusés chroniques ;
- Personnes infectées par le VIH ou le VHC ou une autre IST ;
- Candidats à une greffe ;
- Personnes adeptes du tatouage ou du piercing [33].

5. Marqueurs biologiques

Le diagnostic biologique se fait systématiquement en cas d'hépatite virale et en sérologie virale [10]. Il permet de rechercher dans le sérum (ou plasma) des anticorps, des antigènes et d'ADN viral.

5.1. Les marqueurs

Le diagnostic d'hépatite est posé sur le bilan de la fonction hépatique.

Ag HBs et Ac anti HBs

L'AgHBs est l'antigène de surface du virus, il indique la présence du virus et donc reflète la contagiosité.

Les AgHBs sont les marqueurs essentiels de l'infection. Ils apparaissent dans le sang au cours de la phase d'incubation. Leur disparition témoigne d'une évolution favorable de la maladie. A l'inverse, leur persistance plus de 6 mois témoigne d'une évolution chronique de l'infection. En règle générale, les Ac anti-HBs ne sont détectables qu'après la disparition des

AgHBs. Les Ac anti HBs signifie la guérison et l'immunité contre l'infection [34]. Mais dans certaines situations comme celle de l'hépatite fulminante, les AgHBs et les Ac anti-HBs peuvent coexister.

La présence d'Ac anti-HBs traduit également une réponse immunologique à la vaccination. La séroprotection contre le VHB est définie par un titre d'Ac anti-HBs supérieur ou égal à 10 mUI/ml, 1 à 3 mois après un schéma complet de vaccination [35].

AgHBc et Ac anti-HBc

Les AgHBc sont détectables dans les hépatocytes mais pas dans le sérum [34].

L'Ac Anti-HBc montre par sa présence un contact avec le VHB sans présager de l'évolution vers la chronicité ou la guérison. Les IgM HBc témoignent d'une infection aiguë et apparaissent au cours de la phase pré-ictérique et, les IgG HBc persistent à vie après le contact.

Ag HBe et Ac anti HBe

L'AgHBe est lié à la nucléocapside et s'exprime seulement quand celle-ci est en voie de lyse. L'AgHBe du virus montre une corrélation entre la réplication virale et le degré d'infection.

L'Ac Anti-HBe permet par sa présence de différencier le VHB « sauvage » du « mutant de la région pré-C », il indique un degré d'infection faible. C'est un marqueur mettant fin à la réplication virale et l'entrée dans la guérison.

L'ADN du VHB

L'ADN viral est un marqueur de l'intensité de la réplication. Les techniques quantitatives comme la PCR sont utilisées pour suivre l'évolution de l'ADN viral.

❖ Détection des antigènes et anticorps

La détection des antigènes viraux et des anticorps spécifiques dans les fluides biologiques est fondée sur l'utilisation des tests immunologiques de type ELISA (Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay). Ces tests sont appelés « sandwich » car l'antigène ou l'anticorps recherché est pris en « sandwich » entre deux anticorps lorsqu'il s'agit d'un antigène ou entre un antigène et un anticorps lorsqu'il s'agit d'un anticorps. Les méthodes immunologiques sont faciles à utiliser, automatisables et, de ce fait, permettent de traiter un grand nombre d'échantillons. Elles sont en outre peu coûteuses [36].

Outres les méthodes automatisables, il existe aussi des tests rapides (TDR) pour la détection de l'AgHBs à partir de sérum ou plasma.

5.2. Les profils sérologiques des tableaux cliniques

Cliniquement, l'infection par le VHB est responsable d'hépatites aiguës, fulminantes, chroniques pouvant être asymptomatiques.

5.2.1. Infection aiguë

La période d'incubation moyenne est de 90 jours (extrêmes : 60-150 jours). La probabilité de développer des symptômes d'hépatite à la suite d'une nouvelle infection par le VHB dépend de l'âge. Plus de 90% des infections à VHB périnatale sont asymptomatiques, tandis que les manifestations typiques de l'hépatite aiguë sont observées chez 5-15% des jeunes enfants nouvellement infectés (1-5 ans) et chez 33-50% des enfants plus âgés, des adolescents, et adultes. Les personnes atteintes d'hépatite B aiguë peuvent présenter des signes et des symptômes tels que des nausées, des douleurs abdominales, des vomissements, de la fièvre, une jaunisse, une urine foncée, des changements dans la couleur des selles et une hépatomégalie ou une splénomégalie [12].

Seuls deux marqueurs sont recommandés pour le diagnostic de l'hépatite aiguë. Il s'agit de l'AgHBs et des anticorps anti-HBc de type IgM. La présence simultanée d'AgHBs et d'IgM anti-HBc dans un contexte d'hépatite aiguë signe le diagnostic d'hépatite aiguë B.

Toutefois, des IgM anti-HBc sont parfois décelables, le plus souvent à un faible titre, chez les patients ayant une infection chronique.

La disparition de l'AgHBs est le critère sérologique de guérison d'une hépatite aiguë B [37].

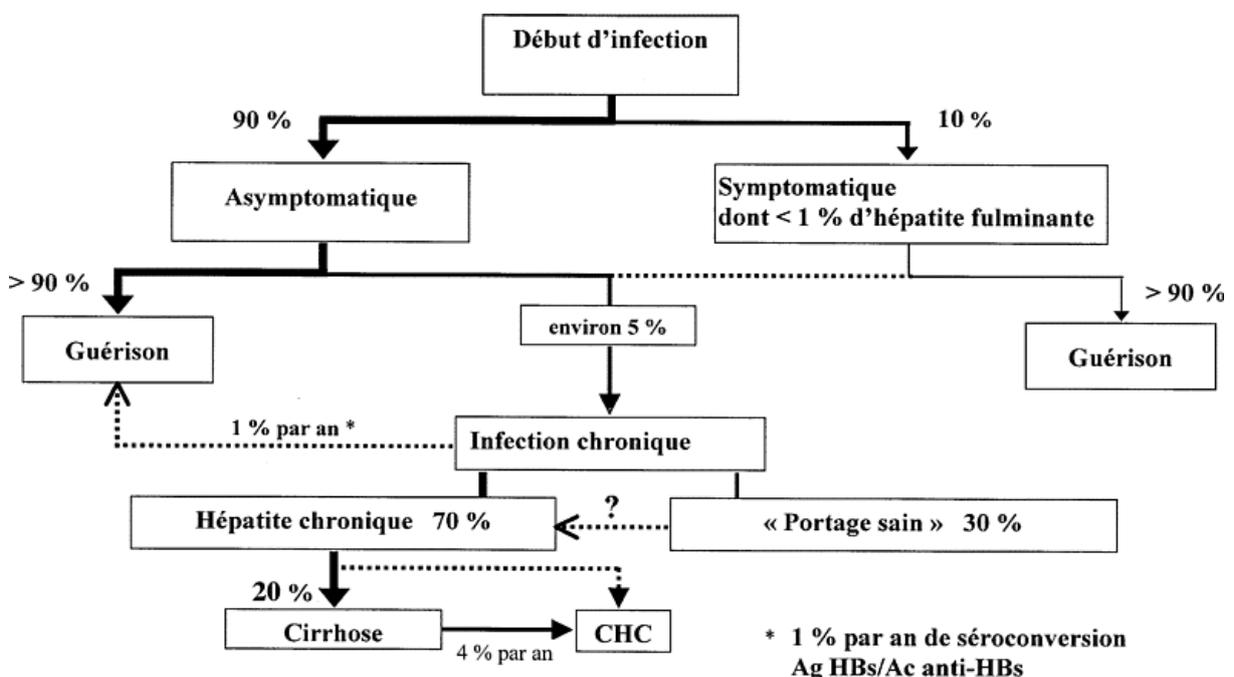


Figure 5 : Histoire naturelle de l'infection par le VHB chez l'adulte [38].

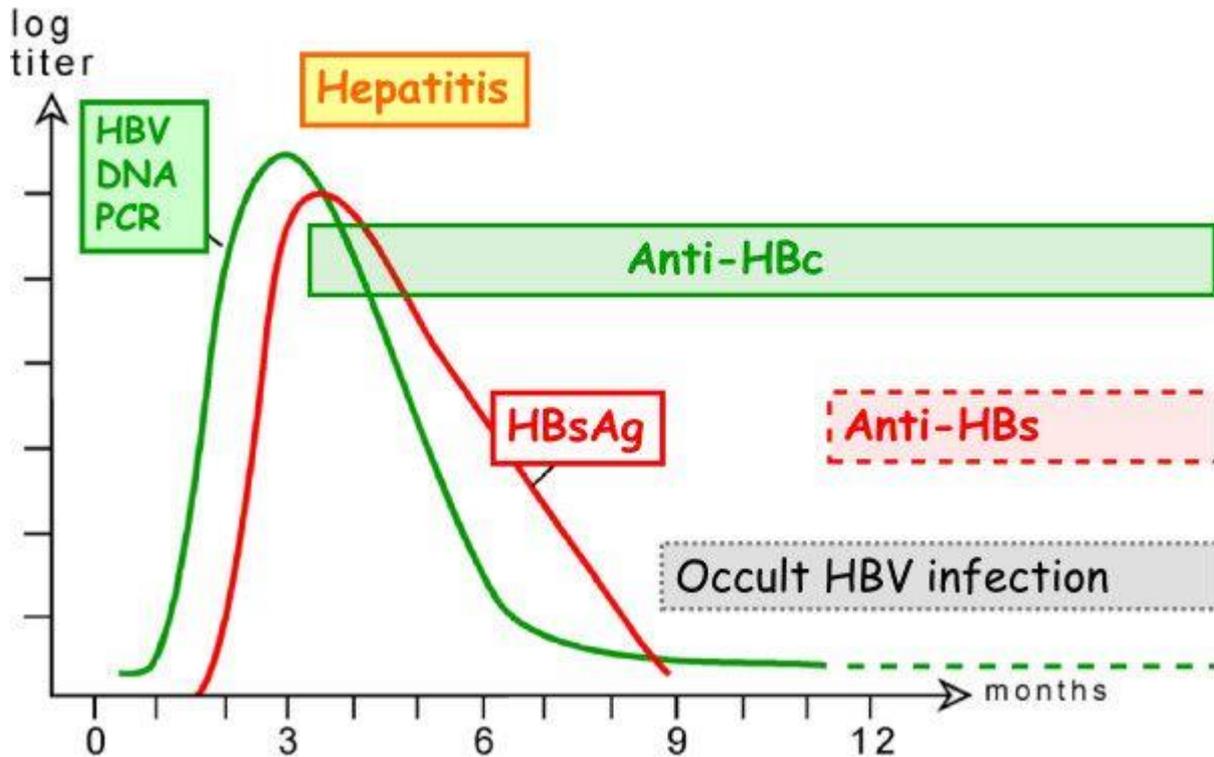


Figure 6 : Représentation schématique de l'évolution des infections aiguës par le VHB avec résolution [9].

Après l'événement infectant (temps 0) suit une phase de latence de plusieurs semaines sans marqueurs détectables. Ensuite, l'ADN du VHB (dans le virus) et l'HBsAg augmentent de façon exponentielle dans le sérum. L'ADN du VHB est détecté plus tôt parce que son dosage est beaucoup plus sensible. Le pic de l'ADN du VHB et de l'HBsAg est atteint avant l'épidémie et les deux diminuent après l'apparition des symptômes cliniques. Au départ, l'ADN du VHB diminue plus rapidement car sa demi-vie dans le sérum est plus courte que l'AgHBs. HBsAg disparaît finalement tandis que l'ADN du HBV peut rester détectable dans les traces. Des anticorps contre l'antigène de base du VHB (anti-HBc) apparaissent avec l'apparition des symptômes, l'anticorps protecteur contre l'AgHBs (anti-HBs) apparaît très tard, généralement plusieurs semaines ou mois après la disparition de l'HBsAg. La disparition de HBsAg est considérée comme un signe de résolution, mais le virus reste souvent sous une forme occulte dans le foie [9].

5.2.2. Infection chronique

L'hépatite B chronique est une maladie qui reste silencieuse durant de nombreuses années. L'infection chronique est définie par la persistance de l'antigène HBs pendant plus de six (06) mois après la contamination virale. Elle est le plus souvent asymptomatique et le plus courant des symptômes est l'asthénie pouvant être due à plusieurs causes. Ainsi, l'infection au VHB

est très souvent découverte tardivement et de manière fortuite. Par exemple, lors d'un don du sang, d'une grossesse ou d'un bilan sanguin [39].

Le passage à la chronicité est inversement proportionnel à l'âge auquel survient l'infection. Ce risque est majeur quand l'infection survient avant l'âge de 5 ans (90 % des enfants infectés avant l'âge d'un an, et 30 % à 50 % des enfants infectés entre un an et quatre ans, vont développer une infection chronique) [29].

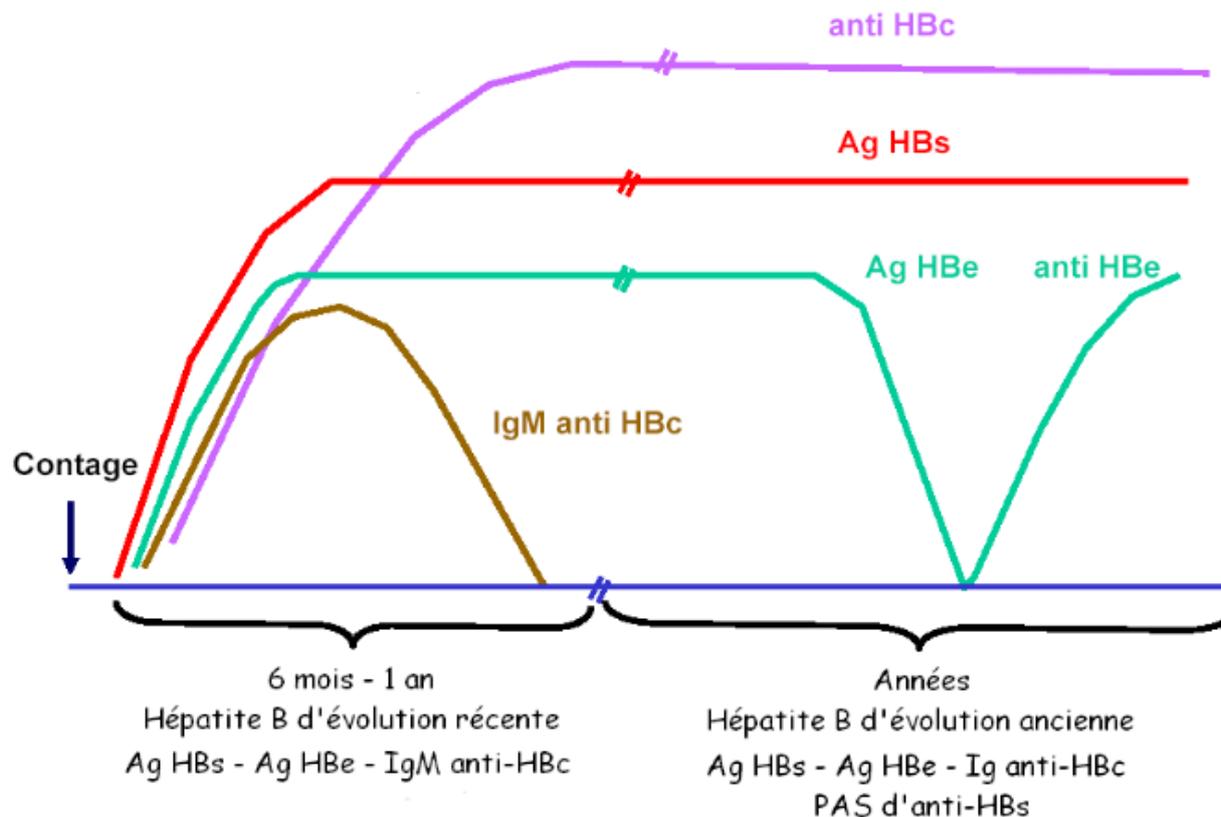


Figure 7 : Evolution des marqueurs viraux de l'infection à l'hépatite virale B [40].

Classiquement, une infection chronique par le VHB sauvage évolue en 3 phases successives qui sont :

❖ **Première phase : multiplication intense du VHB**

Sur le plan de la sérologie, cette phase est caractérisée par la présence des marqueurs de réplication virale dans le sérum, à savoir ADN du virus et antigène HBe. Cette phase dure d'une à plusieurs années.

❖ **Deuxième phase : phase dite de séroconversion HBe**

C'est la phase au cours de laquelle la réponse immunitaire s'intensifie. Il y a diminution, puis disparition dans le sérum des marqueurs de réplication virale, d'abord l'ADN puis l'antigène HBe. L'activité de la maladie hépatique est à ce moment très forte et peut conduire à des

lésions sévères : fibrose extensive, voire cirrhose. Plusieurs tentatives de séroconversion, finalement abortives, sont remarquables au cours de cette phase.

❖ Troisième phase

Elle ne survient pas dans tous les cas. Elle est caractérisée par l'absence des marqueurs de réplication et la présence de l'anticorps anti-HBe. Toutefois, bien que l'ADN ne soit plus détectable dans le sérum par les techniques d'hybridation classiques, il persiste une faible multiplication détectable par PCR. Durant cette phase, l'activité de la maladie hépatique est faible, voire nulle. Mais, il peut se reproduire une réactivation pendant cette phase.

Ces 3 phases ont en commun la présence de l'AgHBs dans le sérum [41].

6. Prévention & traitement

6.1. Prévention

Outre la vaccination il existe des moyens de prévention non spécifiques parmi lesquels on peut citer :

- Éviter d'être en contact direct avec du sang et des liquides organiques ;
- Usage de préservatif lors des rapports sexuels ;
- Éviter la consommation des drogues illicites et d'abuser des médicaments sur ordonnance, y compris les drogues injectables ;
- Éviter le partage des objets tranchants comme des rasoirs, brosses à dents, boucles d'oreilles et coupe-ongles ;
- S'assurer que des aiguilles et du matériel stérile sont utilisés dans un cadre médical, chez le dentiste, pour l'acupuncture, les tatouages et le piercing ;
- Porter des gants et utiliser une solution fraîchement préparée d'eau javellisée pour nettoyer les taches de sang ;
- Se laver les mains soigneusement avec de l'eau et du savon après avoir été en contact avec du sang ou en avoir nettoyé ;
- Et le plus important : se faire vacciner contre l'hépatite B [42].

➤ Vaccination

Depuis 1982, il existe un vaccin pour le VHB. Son efficacité est de 90 à 95%. Les 5% des cas de non réponse sont essentiellement dus à des déterminants génétiques particuliers. Néanmoins un âge supérieur à 40 ans, le sexe masculin, le tabagisme, l'alcoolisme, l'hémodialyse, la co-infection par le VIH ou l'hépatite C, l'obésité ou l'existence d'une cirrhose sont des facteurs favorables à une moindre réponse à la vaccination. Le vaccin anti-

VHB est aussi le premier vaccin contre le cancer et le premier vaccin contre une infection sexuellement transmissible [3, 41].

L'OMS et les CDC recommandent la vaccination contre l'hépatite B pour tous les nourrissons et tous les enfants de moins de 18 ans. Les CDC recommandent également aux adultes appartenant aux groupes à haut risque de se faire vacciner [42].

☞ Le mode d'administration et le schéma vaccinal

Les vaccins sont administrés par voie intramusculaire, dans la cuisse chez les nourrissons et dans le muscle deltoïde chez les adultes et les enfants.

Un schéma vaccinal préférentiel en trois injections est recommandé.

Il doit respecter un intervalle d'au moins 1 mois entre la première et la deuxième injection, et un intervalle de 5 à 12 mois entre la deuxième et la troisième injection.

Un autre schéma est possible, accéléré, avec injection à 0, 1, 2, 12 mois, qui confère une protection plus rapide, et doit permettre une meilleure compliance.

Dans des circonstances exceptionnelles, lorsqu'une immunité encore plus rapide est nécessaire, (par exemple pour un voyageur se rendant dans des zones de haute endémie qui commence un schéma de vaccination contre l'hépatite B dans le mois précédent le départ, et pour les étudiants en filière de santé), un schéma de 3 injections intramusculaires pratiquées à 0, 7 et 21 jours peut être proposé. Lorsque ce schéma est appliqué, une dose de rappel est recommandée 12 mois après la première injection.

Pour les adolescents de 11 à 15 ans révolus, non antérieurement vaccinés, la vaccination peut être réalisée soit selon le schéma classique à 3 doses, soit avec un schéma à 2 doses en respectant un intervalle de 6 mois entre les 2 doses.

Au-delà des injections du schéma vaccinal, les doses de rappel ne sont pas recommandées chez les personnes connues pour avoir répondu à la vaccination (Ac Anti HBs > 10mUI/ml), même si le taux d'Ac Anti-HBs est devenu indétectable [43, 44, 45].

Cependant, pour les professionnels de santé et les personnes à haut risque d'exposition, les rappels sont recommandés si on ne peut être certain de leur immunité contre l'hépatite B.

Il existe deux (02) types de vaccins contre le VHB :

- Les vaccins recombinés, issus du génie génétique. Ils sont fabriqués en utilisant de l'AgHBs synthétisé par des levures ou des cellules de mammifères dans lesquelles un gène codant pour l'AgHBs a été introduit.
- Les vaccins dérivés du plasma, obtenus à partir d'AgHBs purifié extrait du plasma de porteurs chroniques du VHB.

Les vaccins dérivés du plasma ont laissé progressivement leur place aux vaccins recombinés. Cependant, ces 2 types de vaccins ne diffèrent ni sur leur efficacité, ni sur leur durée de protection [46].

6.2. Traitement

6.2.1. But du traitement

Comme une amélioration clinique et histologique accompagne une réduction de la réplication du VHB, les interventions visant à réduire la réplication du VHB devraient limiter la maladie hépatique progressive et améliorer l'histoire naturelle de l'infection chronique par le VHB. Toutefois, dans la pratique, les conséquences graves de l'infection par le VHB évoluent au fil des décennies, alors que les essais cliniques de traitement antiviral sont limités à 1 à 2 ans et, dans de rares cas, à 5 ans [47].

Le VHB est un virus à ADN et son génome peut s'intégrer dans celui des cellules infectées. C'est pourquoi **il est difficile d'éradiquer le VHB de l'organisme une fois que la maladie est devenue chronique.**

Le traitement a pour but de faire disparaître le virus, but rarement atteint. Il permet de stopper la multiplication virale afin de diminuer l'activité du virus et d'accélérer le passage à la phase de porteur inactif du virus [48].

Les traitements actuels ont uniquement pour but d'éliminer ou de réduire significativement la réplication virale afin de prévenir la progression de la maladie hépatique vers la cirrhose et le carcinome hépatocellulaire [36].

6.2.2. Traitement proprement dit [36].

Il consiste à l'utilisation de deux (02) types de molécules antivirales qui sont : les interférons alpha pégylés et les analogues nucléosidiques et nucléotidiques, des inhibiteurs puissants et sélectifs de la transcriptase inverse de l'ADN polymérase virale.

6.2.2.1. Indication de traitement

Chez les malades ayant une hépatite chronique B, la décision thérapeutique est fondée sur l'évaluation de multiples paramètres cliniques, biologiques et pronostiques, dont les plus importants sont le niveau de la charge virale, le niveau d'activité sérique des aminotransférases, et la sévérité de l'atteinte hépatique. Le traitement antiviral est indiqué chez les malades ayant une charge virale supérieure à 2×10^4 UI/ml et une activité sérique des aminotransférases supérieure à deux fois la limite supérieure de la normale. Chez les malades ayant une activité sérique des aminotransférases modérément augmentée (entre 0,5 et 2 fois la limite supérieure de la normale) et une charge virale comprise entre 2×10^3 UI/ml et 2×10^4 UI/ml, l'évaluation histologique ou non invasive de l'atteinte hépatique est recommandée,

particulièrement chez les sujets de plus de 40 ans. Si une activité nécrotico-inflammatoire et/ou une fibrose modérée à sévère est (sont) observée(s), le traitement antiviral est indiqué. La décision de traiter est difficile chez les malades ayant un AgHBe négatif, un ADN du VHB détectable et une fibrose minime à modérée, car aucun seuil de réplication au-dessus duquel le traitement est indiqué n'a été clairement défini. Des études prospectives sont nécessaires pour déterminer les valeurs de charge virale au-dessus desquelles les patients atteints d'hépatite chronique B devraient être traités, ou en-dessous desquelles les patients ne devraient pas être traités.

6.2.2.2. Choix du schéma thérapeutique

Il n'existe pour l'instant pas de consensus sur le traitement de première intention de l'infection chronique par le VHB. Les patients infectés par un virus sauvage (AgHBe positif) ayant une charge virale modérée et une activité sérique des ALAT élevée (> 2-5 fois la limite supérieure de la normale) sont de bons candidats au traitement par l'interféron alpha pégylé. Les génotypes A et B semblent mieux répondre à l'interféron alpha pégylé que les génotypes C et D. Néanmoins, aucune étude n'a montré à ce jour l'intérêt individuel de la détermination du génotype pour orienter le traitement antiviral.

Les patients ayant un AgHBe positif et n'ayant pas répondu au traitement de première ligne par l'interféron alpha pégylé, ainsi que les malades ayant une hépatite chronique B à antigène HBe négatif, sont candidats à un traitement prolongé, probablement à vie, par les analogues nucléosidiques. La combinaison de plusieurs molécules antivirales en première intention permet de retarder la survenue de la résistance par rapport aux monothérapies ou aux traitements séquentiels.

6.2.2.3. Suivi de l'efficacité antivirale du traitement

Quels que soient le statut sérologique HBe et le traitement entrepris, l'évaluation de l'efficacité du traitement antiviral est fondée sur des mesures répétées de la charge virale et de l'activité sérique des ALAT, en principe tous les 3 à 6 mois. Chez les patients ayant un AgHBe positif, l'efficacité du traitement antiviral est attestée par la perte de l'antigène HBe, suivie de l'apparition des anticorps anti-HBe (séroconversion HBe), une réduction de la charge virale au-dessous de 2×10^4 UI/ml et une normalisation de l'activité sérique des ALAT.

Chez les patients infectés à la naissance ou au cours de la petite enfance ayant eu une phase d'immunotolérance très longue (10 à 40 ans), la séroconversion HBe pourrait ne pas être le critère de réponse le plus adapté, car des données récentes ont suggéré que la maladie

hépatique continuait de progresser après la séroconversion HBe. Chez ces patients, l'objectif du traitement doit être un

ADN du VHB indétectable par une méthode sensible et une normalisation de l'activité sérique des ALAT.

Chez les patients ayant un AgHBe négatif ou chez les patients AgHBe-positifs n'ayant pas obtenu de séroconversion après un traitement à court terme, qui reçoivent des analogues nucléosidiques, l'objectif du traitement est que l'ADN du VHB soit indétectable par une méthode de PCR sensible avec un seuil de détection de 10-15 UI/ml et que l'activité sérique des ALAT soit normale.

Néanmoins, cet objectif n'est pas toujours atteint et il est recommandé que la réplication virale soit maintenue au niveau le plus bas possible pendant le plus longtemps possible (idéalement à vie).

Dans tous les cas, lorsqu'une réponse virologique au traitement a été observée (réduction significative de la charge virale) et qu'elle est suivie d'une rechute caractérisée par une augmentation de la charge virale d'au moins 1 Log₁₀ UI/ml par rapport au nadir, une résistance virale au traitement doit être suspectée, après vérification de l'observance thérapeutique. La mise en évidence des substitutions amino-acidiques associées à la résistance n'a pas d'indication claire en pratique clinique aujourd'hui, mais elle pourrait devenir indispensable dans un avenir proche pour guider la prescription thérapeutique de molécules de plus en plus nombreuses, à condition que des algorithmes décisionnels consensuels soient établis, permettant d'orienter la thérapeutique en fonction des résultats de cet examen.

METHODOLOGIE

III. METHODOLOGIE

1. Cadre d'étude

1.1. Présentation de la région de Sikasso

Sikasso encore appelé KENEDOUGOU, est la troisième région administrative du Mali. Elle est située dans la partie méridionale du territoire à environ 400 km de Bamako, la capitale. Elle est limitée :

- Au nord par la région de Ségou ;
- Au nord-ouest par la région de Koulikoro ;
- Au sud par la république de Côte d'Ivoire ;
- Au nord-est par le Burkina Faso ;
- Au sud-ouest par la république de Guinée.

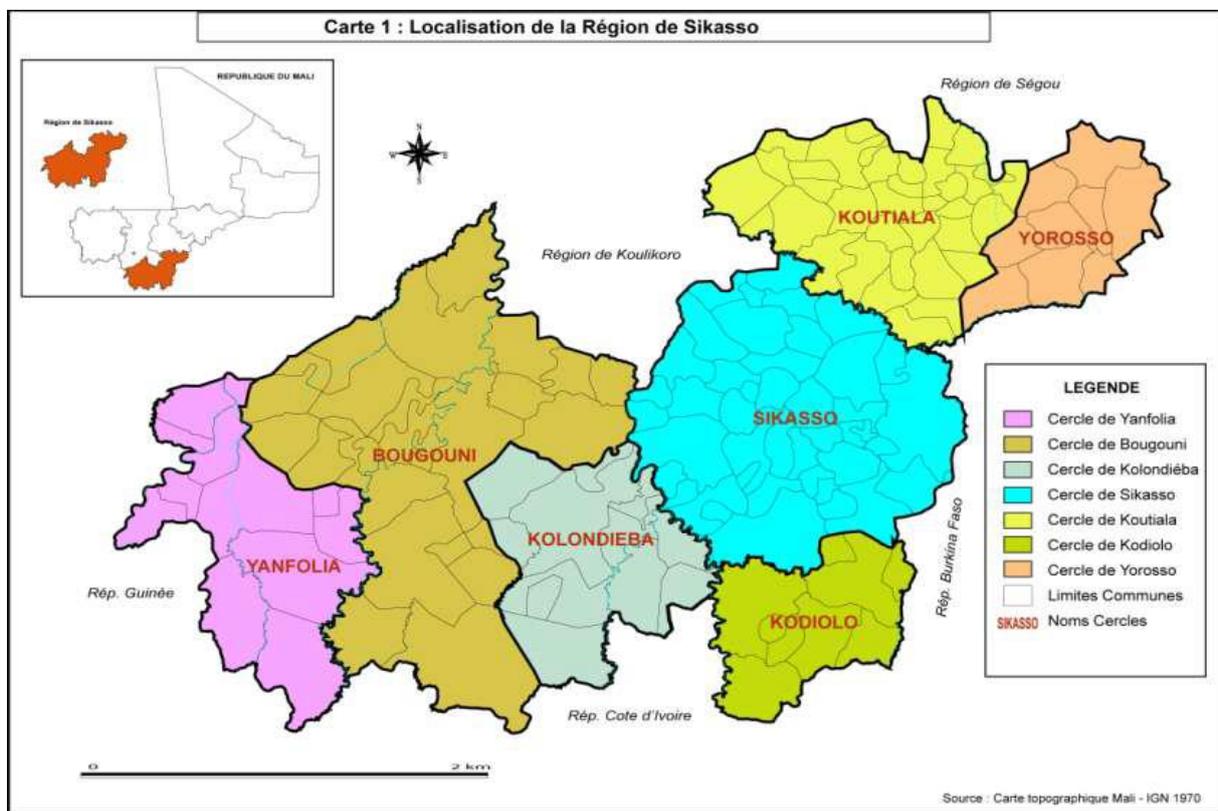


Figure 8 : Carte de la région de Sikasso (Source : Carte topographique Mali-IGN 1970)

La couverture sanitaire de la région : un hôpital de deuxième référence situé dans la capitale régionale, des CSRef, des CSCOM, des cabinets médicaux.

1.2. Présentation de l'hôpital de Sikasso

L'hôpital de Sikasso est un Etablissement Public Hospitalier (EPH) de 2^{ème} référence dans la pyramide sanitaire du Mali. Il est situé au quartier Lafiabougou non loin du commissariat de police du 2^{ème} Arrondissement sur la route de Missirikoro en face du village CAN annexe.

Il a 5 portes d'accès :

- Une porte principale destinée aux malades et usagers,
- Une porte destinée aux véhicules d'urgence,
- Une porte destinée à l'entrée du personnel,

L'ensemble de ces portes fait face à la route de « Missirikoro » ;

- Une porte d'accès de la morgue qui est située sur la façade Nord,
- Une porte d'accès des sapeurs-pompier située sur la façade Est.

☞ **Mission** : Participer à la mise en œuvre de la politique nationale de santé sur toute l'étendue de la région.

A cet effet il est chargé de :

- Assurer le diagnostic, le traitement des malades, des blessés et des femmes enceintes ;
- Prendre en charge les urgences et les cas référés ;
- Assurer la formation initiale et la formation continue des professionnels de la santé ;
- Conduire des travaux de recherche dans le domaine médical [49].

L'hôpital de Sikasso est la structure hospitalière de référence de la région, il est géré par 3 organes :

- Un conseil d'administration.
- Un comité directeur.
- Et une direction générale.

Il couvre une superficie d'environ huit (8) hectares (ha) et compte 15 services, il occupe le 1er rang dans la référence, ce qui le met au sommet de la pyramide sanitaire de la région.

Ce complexe hospitalier est pavillonnaire et comprend 21 bâtiments avec un mur de clôture de 1,7 km linéaire. La pose de la première pierre a été faite en Novembre 2007 et l'inauguration a eu lieu le 18 Octobre 2010 par son excellence le président de la république.

Le déménagement s'est déroulé le 29 Novembre 2010.

Tableau I : Les ressources humaines du laboratoire / banque de sang (Source : organigramme de l'hôpital)

Qualifications	Fonction/responsabilité
Un (01) Pharmacien Biologiste	Chef de service (Laboratoire/ banque de sang)
Quatre (04) Assistants Médicaux	Un responsable des personnels (surveillant de service)
Un (01) Ingénieur Sanitaire	Agent technique et RAQ
Trois (03) Techniciens Supérieurs de Santé	Agents techniques
Quatre (04) thésards	Agents techniques
Une (01) infirmière	Phlébotomiste
Deux (02) Secrétaires	Accueil et orientation
Un (01) manœuvre	Coursier et autres

Activités menées : laboratoire / banque de sang

- ☞ Prélèvements et traitements des échantillons biologiques des malades ambulatoires et hospitalisés tous les jours ;
- ☞ Traitement, collecte et distribution des poches ;
- ☞ Assurer les permanences et les gardes (labo-urgence et la banque de sang) ;
- ☞ La formation pratique des thésards ;
- ☞ La formation des étudiants des différentes écoles de santé ;

2. Type et période d'étude

Il s'agit d'une étude prospective transversale qui s'est déroulée de juin à décembre 2018.

3. La population

Notre population d'étude était constituée par les patients venus au laboratoire pour un diagnostic de l'AgHBs et/ou des autres marqueurs (AgHBe et Anti-HBc totaux) soit parce qu'ils sont malades (hospitalisés ou non), soit parce qu'ils avaient décidé volontairement de connaître leur statut sérologique.

3.1. Les critères d'inclusion et de non inclusion

 **Critères d'inclusion**

Sont inclus dans notre étude tous les patients (adultes et enfants) reçus au laboratoire pour un dépistage de l'antigène de surface du VHB et/ou d'autres marqueurs de l'hépatite virale B et qui ont consenti à faire partie de l'étude.

✚ Critères de non inclusion

N'était pas incluse, toute personne ne souhaitant pas faire partie de l'étude.

3.2. Echantillonnage

3.2.1. Taille d'échantillonnage

L'échantillonnage concernait l'ensemble des patients référés au laboratoire pour un test de dépistage du VHB dans le cadre d'un bilan systématique (hospitalisés ou non) ou pour un dépistage volontaire. L'échantillonnage a été exhaustif.

3.2.2. Variables étudiées

Les variables étudiées étaient les suivantes :

Les données sociodémographiques (l'âge, le sexe, le statut matrimonial, la profession, le niveau d'étude, la résidence) et les marqueurs biologiques (l'antigène HBs, les anticorps anti-HBc totaux, l'antigène HBe).

3.3. Conditions de sécurité au laboratoire

- ✓ Port de gant et de blouse,
- ✓ Lavage des mains après enlèvement des gants,
- ✓ Eau de javel pour effluents (sérum – lavage),
- ✓ Pas de contact des substrats avec la peau,
- ✓ Nettoyage des paillasse à l'eau de javel,
- ✓ Utilisation de 2 sortes de poubelles :
 - Une pour cartons d'emballage, papiers...
 - Une pour déchets contaminés pour incinération,
- ✓ Lavage des mains avant de quitter le laboratoire,
- ✓ Toute plaie doit être protégée (pansement),
- ✓ Projection dans les yeux (laver abondamment à l'eau ou au sérum physiologique),
- ✓ Déclaration des accidents de travail sur le registre et suivi sérologique (faire une sérologie dès l'accident puis contrôler à 3 semaines et à 3 mois, 4 mois parfois),

3.4. Matériels et Méthodes

3.4.1. Matériels

- ✓ Corps et aiguille de système de prélèvement sous vide ;
- ✓ Tubes de prélèvement sous vide ;
- ✓ Garrot ;
- ✓ Coton hydrophile ;
- ✓ Alcool à 70° ;

- ✓ Pansements ;
- ✓ Boîte récupératrice d'aiguilles, poubelle pour déchets contaminés et poubelle pour déchets non contaminés ;
- ✓ Mini VIDAS ;
- ✓ Centrifugeuse.

Consommables

- ✓ Pipette à embout jetable permettant la distribution de :
 - ☞ 150 µL de sérum ou plasma pour l'anticorps HBc total II.
 - ☞ 150 µL de sérum ou plasma pour l'antigène HBe.
- ✓ Gants non talqués à usage unique.

Réactifs

- ✓ VIDAS[®] Anti-HBc Total II (HBCT)
- ✓ VIDAS[®] HBe (HBE)
- ✓ Abbott Determine[®] HBsAg

3.4.2. Méthodes

3.4.2.1 Le prélèvement sanguin

Les prélèvements étaient réalisés sous la responsabilité du biologiste et sont pratiqués par le personnel autorisé.

NB : Avant d'appeler le patient, il est nécessaire de vérifier la présence de tout le matériel indispensable au prélèvement.

☞ Mode opératoire

Le préleveur, muni du bulletin de demande d'analyse s'assure de l'identité du patient (nom, prénom et âge etc.).

Il s'assure de la conformité des conditions de prélèvement et identifie les tubes en inscrivant l'initial du nom, du prénom et le numéro d'identification.

- ✓ Antisepsie de la peau à l'aide d'un coton imprégné de solution antiseptique.
- ✓ Pose du garrot et recherche de la veine à prélever rapidement.
- ✓ Utilisation d'aiguille stérile à usage unique obligatoire.
- ✓ Desserrer le garrot avant de retirer l'aiguille.
- ✓ Retirer l'aiguille tout en comprimant la veine avec un coton sec.
- ✓ Le patient assure la compression (et non pas la friction) pendant quelques minutes.

↳ **Elimination de l'aiguille**

Les aiguilles doivent être obligatoirement éliminées dans le récipient prévu à cet effet (boîte de sécurité), immédiatement après le prélèvement et au vu du patient. Interdit de recapuchonner.

3.4.2.2 Analyse des échantillons

↳ **Phase pré-analytique**

Un prélèvement sanguin veineux est fait au pli du coude dans les conditions d'asepsie rigoureuse. Ce prélèvement est recueilli sous système vacutainer dans un tube sec ou un tube contenant de l'héparinate de lithium.

↳ **Phase analytique**

Un prétraitement par centrifugation à 3500tours/min pendant 10min est réalisé.

Le sérum obtenu constitue notre échantillon de travail. Le reste de l'analyse est exécuté à l'aide des réactifs Abbott Determine® HBsAg et de l'automate Mini VIDAS®.

Validation technique/ Critères de repasse

Vérifier la présence d'un volume mort d'échantillon et que la cupule substrat soit percée.

↳ **Phase post-analytique**

La validation biologique repose sur la vérification de la cohérence du dossier, les renseignements cliniques et les résultats antérieurs éventuels. Elle est objectivée par la signature du compte-rendu.

↳ **Gestion des déchets**

A la fin de l'analyse, retirer les cônes et cartouches du module, mettre à la poubelle (Mini Vidas) ainsi que les bandelettes.

↳ **Hygiène et sécurité**

- Port des gants à usage unique.
- Port des blouses
- Interdiction de manger et boire lors de l'analyse.

3.4.2.3 Sérodiagnostic du VHB par le test Abbott Determine® HBsAg

La recherche de l'AgHBs a été faite par le test Abbott Determine™ AgHBs.

Abbott Détermine™ AgHBs est un test immunologique qualitatif in vitro à lecture visuelle pour la détection des AgHBs dans le sérum, le plasma ou le sang total humain. Ce test constitue une aide pour la détection de l'AgHBs chez les sujets infectés.

Principes biologiques de la méthode

Prélèvement des échantillons

Le sérum a été prélevé par ponction veineuse et recueilli dans des conditions d'asepsie, de manière à éviter l'hémolyse.

Principe

Le test Abbott Determine AgHBs est un test immuno-chromatographique pour la détection qualitative de l'AgHBs.

L'échantillon déposé sur la zone de dépôt de l'échantillon migre jusqu'à la zone de dépôt du conjugué, il se reconstitue et se mélange avec le conjugué colloïde de sélénium antigène. Ce mélange continue à migrer sur la phase solide jusqu'aux antigènes recombinants immobilisés et aux peptides synthétiques au niveau de la fenêtre patient.

Si l'AgHBs est présent dans l'échantillon, il se lie à l'antigène du conjugué antigène colloïde de sélénium et à l'antigène de la fenêtre/patient en formant une ligne rouge au niveau de la fenêtre/patient.

Si l'AgHBs est absent, le conjugué antigène colloïde de sélénium traverse la fenêtre/patient sans former de ligne rouge.

Une barre de contrôle de procédure est incluse dans ce système de test afin d'assurer la validité du test.

Procédure d'analyse

Le nombre souhaité de test peut être détaché du carton de 10 tests en pliant et déchirant au niveau de la perforation.

Détacher les tests en commençant par la droite du carton de test afin de préserver le numéro de lot apparaissant sur la gauche de ce carton. Enlever la protection plastique de chaque test.

Pour les échantillons

Distribuer 50µl d'échantillon (à l'aide d'une pipette de précision) sur la zone de dépôt de l'échantillon (symbole : flèche).

Attendre au moins 15 minutes (maximum : 60 minutes) et lire le résultat.

Interprétation

Positif

Pour un test positif, deux barres rouges apparaissent, la fenêtre/contrôle (annotée « control »), et la fenêtre/patient (annotée « patient ») sur la bandelette. Toute couleur rouge visible dans la fenêtre/patient doit être interprétée comme un résultat positif.

➤ **Négatif**

Une barre rouge apparaît dans la fenêtre/contrôle, la barre rouge de la fenêtre/patient n'apparaissant pas sur la bandelette.

➤ **Non Valide**

Si la barre rouge n'apparaît pas dans la fenêtre/contrôle de la bandelette et même si une barre rouge apparaît dans la fenêtre/patient de la bandelette, le résultat n'est pas valide et ce test doit être recommencé.

NB : Un contrôle de la procédure annoté "Control" est inclus dans ce système afin d'assurer la validité du test. Si la barre de contrôle ne vire pas au rouge à la fin du test, le résultat du test n'est pas valide et l'échantillon doit être analysé à nouveau.

Tableau II : Performances analytiques des TDR pour la détection de l'AgHBs [50]

Trousses	Volume Lecture	Sensibilité (IC=95%) *	Spécificité (IC=95%) *
Determine™ HBsAg	50µL 15min	97.8% (94.2-100)	100% (99.2-100)
Virucheck® HBsAg	100µL 15min	95.6% (91.4-99.8)	98.2% 95.6-99.9)
Hexagon® HBsAg	250-500µL 10min	95.6% (91.4-99.8)	96.3% (92.8-99.9)
Cypress HBsAg Dipstick®	250-500µL 20min	96.7% (93.0-100)	96.3% (92.8-99.9)

3.4.2.4 Mode opératoire du dosage sur le système mini Vidas BioMérieux. (Référence : fabricant BioMérieux SA, voir annexe)



Figure 9 : L'automate MiniVIDAS® Blue BioMérieux

↳ Principes

Le principe du dosage associe soit :

- la méthode immunologique sandwich à une détection finale en fluorescence pour l'antigène HBe (HBE).
- la méthode immunologique par inhibition à une détection finale en fluorescence pour l'anticorps anti-HBc total II (HBCT).

Le cône (SPR= Solid Phase Receptacles) à usage unique sert à la fois de phase solide et de système de pipetage. Les autres réactifs de la réaction immunologique sont prêts à l'emploi et pré-repartis dans la cartouche.

Toutes les étapes du test sont réalisées automatiquement par l'instrument. Elles sont constituées d'une succession de cycles d'aspiration/refoulement du milieu réactionnel.

Dans une première étape, l'échantillon est prélevé puis transféré dans le puits contenant l'anticorps marqué (conjugué). Le mélange échantillon-conjugué est aspiré et refoulé plusieurs fois dans le cône afin d'augmenter la vitesse de réaction. Cette opération permet à l'antigène de se lier d'une part aux anticorps fixés sur le cône et d'autre part au conjugué.

Lors d'une seconde étape, une saturation des sites restés libre est réalisée par aspiration et refoulement du conjugué contenu dans le cinquième puits de la cartouche. Des étapes de lavage éliminent les composés non fixés.

Lors de l'étape finale de révélation, le substrat (4-Méthylombelliferyl phosphate) est aspiré puis refoulé dans le cône, l'enzyme du conjugué catalyse la réaction d'hydrolyse de ce substrat en un produit (4-Méthylombelliférol) dont la fluorescence émise est mesurée à 450 nm.

La valeur du signal de fluorescence est proportionnelle ou inversement proportionnelle à la concentration de l'antigène ou d'anticorps présent dans l'échantillon.

Les résultats sont calculés automatiquement par l'instrument par rapport à une courbe de calibration mémorisée puis imprimés.

↳ Scan des données de la carte MLE

A l'ouverture du nouveau lot, les spécifications (ou données usine) ont été entrées dans l'instrument à l'aide de la carte MLE (fiche de spécifications). Si cette opération n'était pas effectuée avant de commencer les tests, l'instrument ne pourrait pas éditer de résultats. Ces spécifications ne sont entrées qu'une seule fois pour chaque lot. Les spécifications étaient scannées automatiquement grâce à la carte MLE présent sur le coffret par la lecture du code barre.

Calibration

La calibration, à l'aide du standard fourni dans le coffret, doit être effectuée à l'ouverture de chaque nouveau lot après entrée des spécifications du lot tous les 14 jours (l'antigène HBe et l'anticorps HBc total II). Cette opération permet d'ajuster la calibration à chaque instrument et l'évolution éventuelle du réactif dans le temps.

Le standard, identifié par S1, sera analysé en double (l'antigène HBe) et en triple (l'anticorps HBc total II). La valeur du standard doit être comprise dans les limites de RFV (Relative Fluorescence Value) fixée. Si ce n'est pas le cas : refaire une calibration.

↳ Réalisation du test

Sortir uniquement les réactifs nécessaires, les classer 30 minutes à température ambiante avant utilisation.

Utiliser une cartouche et un cône pour chaque échantillon, contrôle ou standard à tester. Vérifier que le sachet de cônes a bien été refermé après chaque utilisation.

Le standard identifié obligatoirement par « S1 », doit être utilisé en double. Si le contrôle positif doit être testé, il sera identifié par C1. Si le contrôle négatif doit être testé, il sera identifié par C2.

Homogénéiser à l'aide d'un agitateur de type vortex le standard, les contrôles et les échantillons.

Distribuer le volume recommandé de standard, d'échantillon, ou de contrôle dans le puits échantillon des cartouches en fonction de l'analyse. Placer dans l'instrument les cônes et les cartouches.

Bien vérifier la concordance des codes (couleurs et lettres) entre le cône et la cartouche.

Démarrer l'analyse. Toutes les étapes sont alors gérées automatiquement par l'appareil.

Les résultats sont obtenus en :

- 90 minutes pour l'anticorps HBc total II et l'antigène HBe ;

A la fin de l'analyse, retirer les cônes et les cartouches utilisés dans un container approprié.

↳ Interprétation

↳ HBCT

$i < 1$: Présence d'anticorps anti-HBc

$1 < i < 1,4$: Résultat équivoque

$i > 1,4$: Absence d'anticorps anti-HBc

Tout résultat équivoque doit être confirmé sur un second prélèvement.

☞ **HBE**

$i < 0,1$: Négatif : absence d'antigène HBe

$i > 0,1$: Positif : présence d'antigène HBe

4. Collecte des données

Les fiches d'enquêtes étaient apprêtées et les informations concernant les aspects sociodémographiques des patients, et le résultat des analyses réalisées y ont été portés. La saisie et l'analyse des données ont été faites sur le logiciel Epi Info7TM et Microsoft 2016. Le chi carré (χ^2) a été utilisé pour la comparaison des variables qualitatives, avec un seuil de significativité si $p < 0,05$.

5. Aspects éthiques

Tout au long de l'étude, nous avons observé le respect strict et rigoureux de la confidentialité et du secret médical.

Les résultats obtenus au terme de ce travail seront inclus dans le dossier médical des patients. La confidentialité des données fut assurée.

Formulaire de Consentement

Je soussigné Mr, Mme.....

Atteste que l'interne désigné ci-dessous m'a proposé de participer à l'étude « PROFIL SEROLOGIQUE DU VIRUS DE L'HEPATITE B AU LABORATOIRE D'ANALYSES BIOMEDICALES DE L'HOPITAL DE SIKASSO ».

J'en ai discuté avec le thésard qui m'a expliqué les avantages de cette étude.

J'ai notamment bien compris que je suis libre d'accepter ou de refuser cette proposition, sans en être inquiété.

J'accepte donc librement de participer à cette étude.

J'autorise que les données confidentielles qui me concernent soient consultées et analysées par les personnes qui collaborent à la recherche et qui sont tenues au secret médical.

Fait à Le:...../...../20.....

Signature

6. Diagramme de GANTT

Notre étude suivait le chronogramme ci-dessous :

Activités 2018-2019	Fév18	Mars	Juin	Juil	Aout	Sept	Oct	Nov	Déc	Jan19	Fév	Mars	Sept
Protocole	X	X												
Enquête			X	X	X	X	X	X	X					
Analyses									X	X	X			
Correction & Soutenance											X	X	X	X



RESULTATS

IV. RESULTATS

De juin à décembre 2018, nous avons enregistré 236 patients pour le dépistage de l'hépatite virale B. La fréquence de l'AgHBs était de **20,34%**.

1. Résultats descriptifs

☞ Caractéristiques sociodémographiques des patients

Tableau III : Répartition des patients selon le sexe.

Sexe	Effectif	Pourcentage
Féminin	122	51,69
Masculin	114	48,31
Total	236	100,0

Le sexe ratio (H/F) était de **0,93**.

Tableau IV : Répartition des patients selon la tranche d'âge.

Tranche d'âge	Effectif	Pourcentage
[0 - 10]	14	5,93
[11 - 20]	20	8,47
[21 - 30]	56	23,73
[31 - 40]	48	20,34
[41 - 50]	41	17,37
[51 - 60]	32	13,56
[61 ++ [25	10,59
Total	236	100,0

L'âge moyen était $38,13 \pm 17,49$ ans.

Les jeunes de 21 à 40 ans ont été les plus représentés avec 44,07%.

Profil Sérologique du VHB au Laboratoire de l'Hôpital de Sikasso

Tableau V : Répartition des patients selon l'ethnie.

Ethnie	Effectif	Pourcentage
Senoufo	70	29,66
Peulh	45	19,07
Bambara	42	17,80
Malinké	11	4,66
Sonrhäï	11	4,66
Dogon	9	3,81
Mianka	7	2,97
Samogo	7	2,97
Bôbô	6	2,54
Soninké	5	2,12
Autres	23	9,75
Total	236	100,0

L'ethnie prédominante était les senoufo avec 29,66%, suivi des peulh et bambara avec respectivement 19,07% et 17,8%.

Tableau VI : Répartition des patients selon le niveau scolaire.

Niveau Scolaire	Effectif	Pourcentage
Primaire	30	12,71
Secondaire	75	31,78
Supérieur	30	12,71
Non Scolarisé	93	39,41
Autres	8	3,39
Total	236	100,0

Les non scolarisés étaient les plus représentés avec 39,41%.

Profil Sérologique du VHB au Laboratoire de l'Hôpital de Sikasso

Tableau VII : Répartition des patients selon la profession.

Profession	Effectif	Pourcentage
Ménagère	69	29,24
Chauffeur	7	2,97
Commerçant(e)	9	3,81
Cultivateur	21	8,90
Elève	20	8,47
Enfant	10	4,24
Enseignant(e)	14	5,93
Etudiant(e)	7	2,97
Force armée	23	9,75
Gestionnaire	5	2,12
Secrétaire	7	2,97
Personnel de Santé	20	8,47
Autres	24	10,17
Total	236	100,0

Les ménagères étaient majoritaires avec 29,24%.

Tableau VIII : Répartition des patients selon le statut matrimonial.

Statut Matrimonial	Effectif	Pourcentage
Célibataire	27	11,44
Enfant	16	6,78
Monogame	118	50,0
Polygame	70	29,66
Veuf(ve)	5	2,12
Total	236	100,0

Les mariés étaient majoritaires avec 79,66%.

Tableau IX : Répartition des patients selon la résidence.

Résidence	Effectif	Pourcentage
Sikasso	210	88,98
Kadiolo	10	4,24
Koutiala	2	0,85
Kolondièba	1	0,42
Yorosso	1	0,42
Autres	12	5,08
Total	236	100,0

La majorité des patients résidaient dans le cercle de Sikasso avec 88,98 % de l'effectif.

Autres : Bamako=2 ; Ségou=1 ; Mopti=1 ; Kayes=1 ; Côte d'Ivoire=7.

2. Résultats analytiques

☞ **Portage des marqueurs sérologiques en fonction des caractéristiques sociodémographiques.**

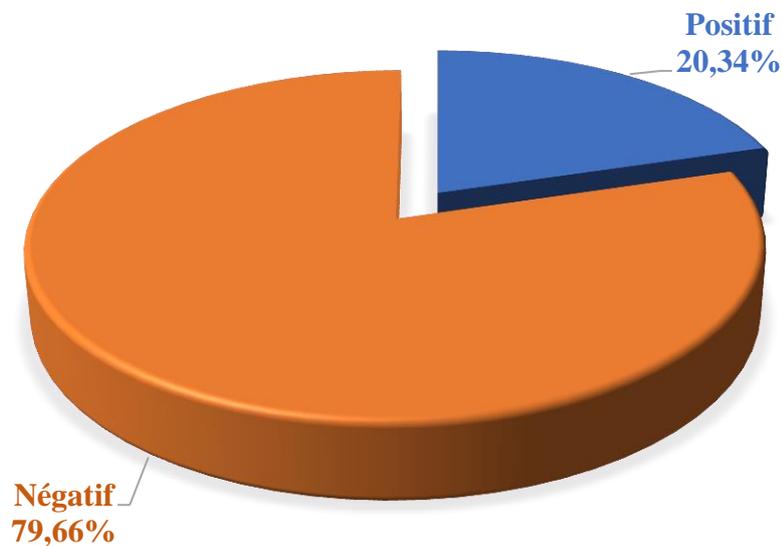


Figure 10 : Fréquence de portage de l'AgHBs.

Profil Sérologique du VHB au Laboratoire de l'Hôpital de Sikasso

Tableau X : Fréquence de portage des anticorps anti-HBc totaux

Anticorps anti-HBc totaux	Effectif	Pourcentage
Négatif	9	10,98
Positif	73	89,02
Total	82	100,0

Les anticorps anti-HBc totaux étaient présents chez 89,02% des patients testés.

Tableau XI : Fréquence de portage de l'antigène HBe.

Antigène HBe	Effectif	Pourcentage
Négatif	44	91,67
Positif	4	8,33
Total	48	100,0

L'antigène HBe était présent chez 8,33% des patients porteurs d'AgHBs.

Tableau XII : Répartition de l'antigène HBs+ selon le sexe.

Sexe	Antigène HBs		Pourcentage
	Positif		
Féminin	19		15,57
Masculin	29		25,44
Total	48		

Il n'y avait pas de liaison statistique significative entre le sexe et la présence de l'antigène HBs ($\text{Khi}^2 = 3,53$ et $p = 0,05$).

Profil Sérologique du VHB au Laboratoire de l'Hôpital de Sikasso

Tableau XIII : Répartition de l'antigène HBs+ selon le statut matrimonial.

Statut Matrimonial	Antigène HBs	
	Positif	Pourcentage
Célibataire	5	18,52
Enfant	1	6,25
Marié	41	42,3
Veuf(ve)	1	20,0
Total	48	

Les mariés étaient majoritaires avec 42,3% de cas positif. Cette différence n'était pas significative ($\chi^2 = 2,98$; $p = 0,55$).

Tableau XIV : Répartition de l'antigène HBs+ selon la résidence.

Résidence	Antigène HBs	
	Positif	Pourcentage
Kadiolo	4	40,0
Sikasso	42	20,0
Autres	2	16,67
Total	48	

Le cercle de Kadiolo était le plus touché avec 40% mais la différence n'était pas significative ($\chi^2=3,521$ et $p= 0,62$).

Tableau XV : Répartition de l'antigène HBs+ selon le niveau scolaire.

Niveau Scolaire	Antigène HBs	
	Positif	Pourcentage
Non Scolarisé	19	20,43
Primaire	6	20,0
Secondaire	17	22,67
Supérieur	6	20,0
Total	48	

Le niveau secondaire était le plus touché 22,67%. La différence n'était pas significative ($\chi^2= 2,298$ et $p= 0,681$).

Profil Sérologique du VHB au Laboratoire de l'Hôpital de Sikasso

Tableau XVI : Répartition de l'antigène HBs+ selon la tranche d'âge.

Tranche d'Age	Antigène HBs		Pourcentage
	Positif		
[0 - 10]	1		7,14
[11 - 20]	4		20,0
[21 - 30]	7		12,5
[31 - 40]	13		27,08
[41 - 50]	13		31,71
[51 - 60]	7		21,88
[61 ++ [3		12,0
Total	48		

La tranche d'âge la plus touchée était [41 – 50] avec 31,71%. Statistiquement, cette différence n'était pas significative ($\chi^2 = 9,367$ et $p = 0,153$).

Tableau XVII : Répartition de l'antigène HBs+ selon la profession.

Profession	Antigène HBs		Pourcentage
	Positif		
Autres	5		31,25
Chauffeur	6		85,71
Commerçant(e)	4		44,44
Cultivateur	4		19,05
Elève	4		20,0
Enseignant(e)	3		21,43
Force armée	5		21,74
Gestionnaire	1		20,0
Ménagère	12		17,39
Ouvrier	2		25,0
Personnel de Santé	2		10,0
Total	48		

Les chauffeurs étaient les plus touchés avec une prévalence de 85,71%. Cette différence était statistiquement significative avec $\chi^2 = 30,85$ et $p = 0,003$.

Profil Sérologique du VHB au Laboratoire de l'Hôpital de Sikasso

Tableau XVIII : Répartition des anticorps anti-HBc totaux selon la tranche d'âge.

Tranche d'Age	Anticorps anti-HBc totaux	
	Positif	Pourcentage
[0 - 10]	1	33,33
[11 - 20]	6	75,00
[21 - 30]	17	94,44
[31 - 40]	17	94,44
[41 - 50]	18	85,71
[51 - 60]	10	100,0
[61 ++ [4	100,0
Total	73	

La tranche d'âge la plus touchée était [51 et plus [avec 100,0%. Statistiquement la différence était significative (Khi2= 14,176 et p= 0,027).

Tableau XIX : Répartition des anticorps anti-HBc totaux selon le sexe

Sexe	Anticorps anti-HBc totaux	
	Positif	Pourcentage
Féminin	25	92,59
Masculin	48	87,27
Total	73	

Le sexe féminin était majoritaire avec 92,59% mais la différence n'était pas significative (Khi2= 0,524 et p= 0,468).



**COMMENTAIRES ET
DISCUSSIONS**

V. COMMENTAIRES ET DISCUSSIONS

L'objectif de cette étude était d'évaluer la prévalence des marqueurs sérologiques au laboratoire de l'hôpital de Sikasso dans le diagnostic biologique de l'infection par le virus de l'hépatite B.

1. Méthodologie

Notre étude était constituée par les patients venus au laboratoire pour un dépistage de l'AgHBs et/ou des autres marqueurs soit parce qu'ils sont malades (hospitalisés ou non), soit parce qu'ils avaient décidé volontairement de connaître leur statut sérologique.

Le dépistage de l'antigène HBs fut réalisé avec le test Abbott Determine® HBsAg qui est, un test immunologique qualitatif in vitro à lecture visuelle pour la détection des AgHBs dans le sérum, le plasma ou le sang total humain.

La spécificité de la performance analytique du test Abbott Determine® HBsAg varie entre 99,2 et 100% (voir Tableau II).

L'anticorps anti-HBc total et l'antigène HBe étaient effectués systématiquement chez tous les porteurs d'AgHBs en utilisant le MiniVIDAS BioMérieux qui utilise la technique ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay) pour réaliser des dosages immunoenzymologiques par inhibition (HBCT) et en sandwich (HBE) à une détection finale en fluorescence.

2. Résultats

2.1. Sociodémographiques

Parmi les **236** analyses qui ont été réalisées dans le cadre du dépistage de l'AgHBs, **48** se sont révélés positives soit une fréquence de **20,34%**.

Dans notre étude le sexe masculin était légèrement moins représenté avec une fréquence de **48,31%** alors que le sexe féminin représentait plus de la moitié de l'échantillon avec **51,69%**.

La tranche d'âge 21-40 ans était la plus représentée soit **44,07%** des patients dépistés pour l'AgHBs. Quant à la résidence de nos patients, nous avons noté une forte prédominance de l'AgHBs dans le cercle de Sikasso, cela s'expliquerait par le fait que notre structure d'étude siège dans le cercle de Sikasso.

Au niveau scolaire, les non scolarisés étaient les plus représentés avec **39,41%**.

Suivant le statut matrimonial, les mariés étaient majoritaires avec **79,66%** et **29,24%** des ménagères selon la profession.

2.2. Marqueurs analytiques

La séroprévalence de l'infection par le virus de l'hépatite B était de **20,34%** dans notre étude. Cette valeur est proche de celle de **MAIGA FO** qui a rapporté une prévalence de **19,9%** de porteurs d'AgHBs en 2014 dans une étude réalisée au Laboratoire Rodolphe Mérieux de Bamako [51] et de celle de **Guneid et al.** 1993 qui ont trouvé une prévalence de **18,5%** d'AgHBs positif parmi les femmes enceintes et les donneurs de sang au Yémen [52].

Par contre notre chiffre est inférieur à celui rapporté au Mali par **DAO et coll.** qui ont eu une séroprévalence de **24,9%** chez les patients dépistés à l'INRSP en 2009 [53]. Cela pourrait s'expliquer par une différence au niveau des populations étudiées.

Cependant, notre valeur est supérieure à celle trouvée en 2003 par **GUINDO O.** avec **14,9%** au CNTS de Bamako chez les donneurs de sang [54] et à celle trouvée dans la population générale en 1980 par **SIDIBE S.** avec **16,5%** [55].

Ces données permettent de classer le Mali parmi les pays de haute endémicité c'est-à-dire une prévalence supérieure à 8% [11, 19].

La prévalence de l'antigène HBe était de **8,33%** parmi les porteurs d'AgHBs de la population d'étude. Ce chiffre est sensiblement égal à celui trouvé par **DEMBELE R.** qui rapportait **8,9%** des patients testés pour cet antigène [56] et à celui rapporté dans une étude publiée en 2001 par « *Bull Soc Pathol Exot* », dans laquelle l'Ag HBe était présent chez **9,4%** des porteurs de l'AgHBs [4].

La prévalence de l'anticorps anti-HBc totaux était de **89,02%**. Cette valeur est supérieure à celle trouvée par **KONATE A.** qui mentionnait dans une étude que 69 % de la population sont porteurs des anticorps anti-HBc totaux [3].

❖ Séroprévalence de l'AgHBs+ selon le sexe

Une forte prédominance de la séroprévalence de l'AgHBs fut observée pour le sexe masculin avec **25,44%** contre **15,57%** pour le sexe féminin. Ce taux élevé est au-delà de l'intervalle de **12 à 15%** pour la population des donneurs de sang [57] tandis que celui du sexe féminin est proche de cet intervalle.

Des études faites, ont prouvées que l'AgHBs était plus fréquent chez les hommes que les femmes [58, 59].

Au Mali, **DAO et coll.** rapportaient une prévalence de **27,8%** pour le sexe masculin contre **21,1%** pour le sexe féminin [53].

Dans son étude, **MAIGA FO,** mentionnait une prédominance de la séroprévalence de l'AgHBs pour le sexe masculin avec **23,6%** contre **13,6%** pour le sexe féminin [51].

Ces nombreuses données de prédominance de l'AgHBs chez l'homme que la femme, méritent des investigations en vue de vérifier si le sexe masculin constitue un facteur de risque de l'infection.

❖ Séroprévalence de l'AgHBs+ selon la tranche d'âge

Nous avons constaté une séroprévalence de l'AgHBs élevé dans toutes les tranches d'âge. La tranche la plus touchée était **41-50 ans** avec **31,71%**.

Dans notre étude, la séroprévalence de l'AgHBs était plus fréquente chez les adultes que chez les enfants. Ceci a été décrit dans plusieurs études qui ont montré que la séroprévalence augmente progressivement avec l'âge [30].

Les prévalences faibles du portage de l'AgHBs chez les enfants s'expliqueraient probablement par l'introduction du vaccin contre l'hépatite B dans le programme élargi de vaccination au Mali depuis 2004 et l'absence de la transmission sexuelle chez cette population.

❖ Séroprévalence de l'AgHBs+ selon la résidence et le statut matrimonial

La prévalence du portage de l'AgHBs était élevée chez les sujets résidants à Kadiolo avec **40,0%**, ce résultat est à prendre avec prudence car cette zone était la moins représentée avec 10 patients sur 236 dépistés. Ceci pourrait s'expliquer par le fait que le cercle de Kadiolo est une zone frontalière où il existe un risque élevé de contamination par promiscuité.

La prévalence était prédominante chez les mariés avec **42,3%** soit : **23,73%** chez les monogames et **18,57%** chez les polygames. La différence n'était pas significative avec $p = 0,55$.

❖ Séroprévalence de l'AgHBs+ selon le niveau scolaire et la profession

Le niveau secondaire était le plus touché avec une prévalence de **22,67%**, suivi des non scolarisés avec **20,43%**.

Les chauffeurs étaient les plus touchés avec une prévalence de **85,71%** suivi des commerçants **44,44%**. La fréquence était faible chez les personnels de santé (**10%**). Cette faible fréquence s'expliquerait peut-être par l'introduction de la vaccination contre le VHB chez les personnels de santé par l'OMS en 1991.

La différence entre les professions était statistiquement significative $p < 0,05$.

Une étude faite au Mali à l'INRSP en 1999 par **BOUGOUDOGO et coll.** chez le personnel du laboratoire a donné une prévalence en AgHBs de **10%** [4].

Une autre étude faite en 2009 par **DAO et coll.** mentionnait **18,6%** chez les personnels de santé et **32,3%** chez les chauffeurs [53].

❖ **Séroprévalence de l'Anti-HBc totaux selon le sexe et la tranche d'âge**

Le sexe féminin fut prédominant avec une prévalence de **92,59%** contre **87,27%** pour le sexe masculin.

La tranche d'âge **51 et plus** fut la plus touchée avec une prévalence de **100%**, suivi de celle de **21-40 ans** avec **94,44%**. La différence était significative avec $p= 0,027$ ($p<0,05$).

CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

VI. CONCLUSION & RECOMMANDATIONS

1. Conclusion

Dans notre étude, la séroprévalence obtenue confirme la forte endémicité de l'infection par le VHB au Mali, bien que les résultats étudiés ne soient pas représentatifs à la population générale.

Les marqueurs AgHBe et anti-HBc totaux ont été systématiquement effectués chez tous les porteurs d'AgHBs.

La séroprévalence de l'AgHBs était élevée chez le sexe masculin, la tranche d'âge de **41 - 50 ans**. La profession la plus touchée était les chauffeurs.

2. Recommandations

❖ Aux autorités sanitaires et politiques

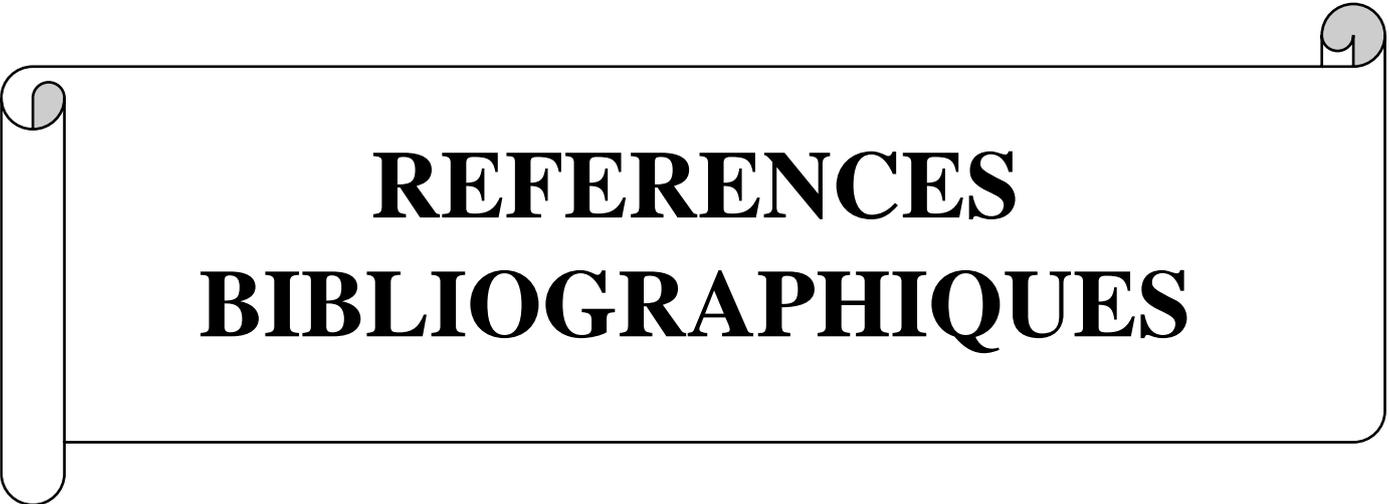
- ☞ Mettre en place un programme de sensibilisation et d'information sur l'infection par le virus de l'hépatite B en particulier et les hépatites en général ;
- ☞ Créer un programme national de lutte contre les hépatites et mettre en place la charge virale dans les structures hospitalières du pays.

❖ Au laboratoire de l'hôpital de Sikasso

- ☞ Favoriser la mise en place du dépistage de l'AgHBs par la technique ELFA ;
- ☞ Mettre en place la charge virale à l'hôpital de Sikasso ;
- ☞ Mettre en place le géotypage du VHB à l'hôpital de Sikasso.

❖ A la population

- ☞ S'informer sur les maladies sexuellement transmissibles ;
- ☞ Suivre régulièrement sa sérologie en se faisant dépister ;
- ☞ Et surtout se faire vacciner.



REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

VII. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **WHO.** Vaccination contre l'hépatite B. 2002 p. 1-4.
2. **WHO.** Global Hepatitis Report, 2017. 2017 p. 1-72.
3. **Konate A.** Epidémiologie de l'infection par le virus de l'hépatite B en Afrique. In : Reinert P, dir. Spécial hépatites. 2012. (200) : 11-7
4. **Bougoudogo F, Diarra S, Traoré S, Niangaly A.** Rapport sur la séroprévalence des marqueurs de l'infection par le virus de l'hépatite B au Mali. 2001.
5. **Dembelé N.** Séroprévalence de l'infection par le virus de l'hépatite B (VHB) chez les scolaires âgés de 15 à 25 ans à Bamako, Koulikoro et Sikasso. [Thèse Pharm] : Bamako ; 2006.
6. **Kassogué O.** Diagnostic Sérologique de l'hépatite Virale B. Staff ; 2018 16.
7. **Catrice M.** Prévention de l'hépatite dans les populations migrantes originaires de zones de forte endémie : Afrique subsaharienne et Asie. [Thèse Med]: PARIS 7 – DENIS DIDEROT; 2009.
8. **Dane D S, Cameron C H, Brigg S M.** Virus-like particles in serum of patients with Australia-antigen-associated hepatitis. Lancet, 1970; 1: 695–8.
9. Medical Virology of Hepatitis B: how it began and where we are now. Virol J [en ligne]. consulté le [20/05/2018]
10. **Grosjean J, Clave D, Archambaud M, Pasquier C.** Virus de l'hépatite B. Bactériologie et virologie pratique. 3ème édition. p. 247-250
11. Fiche Technique Santé-Sécurité : Agents Pathogènes – Virus de l'hépatite B. [en ligne]. consulté le [30/05/2018]. Disponible à l'URL : [http:// www.canada.ca](http://www.canada.ca)
12. Infection par le virus de l'hépatite B : Epidémiologie et vaccination. Revues épidémiologiques. 1er août 2006 ; 28(1) : 112-125.
13. **Fleury H J A.** Virus de l'hépatite B. Virologie humaine. 5ème édition. p.126-7.
14. **Marcellin P, Zarski J.** Les virus des hépatites B et Delta. Les virus transmissibles par le sang. In: Birand P. (éd). Montrouge-Londres-Rome: John Libbey Eurotext; 1996. p.53-75.
15. **Pol S, Mallet V, Dhalluin V, Fontaine H.** Hépatites virales, EMC – Maladies infectieuses. Jan 2007 ; 4(1) : 1–32.
16. **Li J S, Tong S P, Wen Y M, Vitvitski L, Zhang Q et Trépo C.** Hepatitis B virus genotype A rarely circulates as an HBe-minus mutant: possible contribution of a single nucleotide in the precore region. J. Virol. Sept 1993; 67(9): 5402–10.
17. **Pol S.** Virus de l'hépatite B, EMC. Paris, France, 2010.

18. **Niesters H G M, Pas S, Man R A.** Detection of hepatitis B virus genotypes and mutants: current status. *Journal of Clinical Virology*. 2005; 34 Suppl 1: S4–S8.
19. **Andre F.** Hepatitis B epidemiology in Asia, the Middle East and Africa. *Vaccine* 2000; 18 Suppl 1: S20-2.
20. **OMS [en ligne].** Introduction du vaccin contre l'hépatite B dans les services de vaccination infantile. Lignes directrices relatives à l'organisation générale, notamment à l'information destinées aux agents de santé et aux parents. Genève, Organisation Mondiale de la santé 2001.
21. **Trépo C, Merle P, et al.** Hépatites virales B et C. Paris : John Libbey Eurotext ; 2006.
22. **Denis F, Trépo C.** Virus des hépatites B et Delta. Paris : Elsevier ; 2004.
23. **OMS [en ligne].** Les nouvelles données de l'hépatite soulignent le besoin urgent d'une riposte mondiale. Communiqué de presse GENÈVE, AMSTERDAM. Publié le 21 avril 2017. Consulté le [09/07/2018]. Disponible sur l'URL : www.who.int/fr.
24. **Van Herck K, Vorsters A, VanDamme P.** Prevention of viral hepatitis (B and C) reassessed. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2008; 22: 1009-1029.
25. **INSERM [en ligne].** Hépatites virales, dépistage, prévention, traitement. INSERM 1997.
26. **De Franchis R, Marcellin P, et al.** EASL International Consensus Conference on Hepatitis B. *J Hepatol*, 2003; 39 Suppl 1: S3-25.
27. **Sacko M.** Etude séro-épidémiologique de la transmission mère-enfant de l'hépatite B dans le district de Bamako. [Thèse Méd], Bamako ; 1998.
28. **Momme JA, Marin H, Zylberg H, Pol S.** Mise au point : Vaccination prophylactique contre l'hépatite B : Actualité et avenir. *Gastro Enterol Clin Biol*. 1999 ; 23 : 452-463.
29. **Liaw YF, Chu CM.** Hepatitis virus infection. *Lancet* 2009; 373: 582-592.
30. **APPIT.** Hépatites virales. In : APPIT. ed. E Pilly. Montmorency: 2M2 Ed; 1997. p.346-359.
31. **Kramvis A, Kew MC.** Epidemiology of hepatitis B virus in Africa, its genotypes and clinical associations of genotypes. *Hepatol Res* 2007; 37: S9-S19.
32. **Lesmana LA, Leung NWY, et al.** Hepatitis B: overview of the burden of disease in the Asia-Pacific region. *Liver International* 2006; 26: 3-10.
33. **ANAES, INSERM [en ligne].** Réunion de consensus. Vaccination contre le virus de l'hépatite B. Paris, ANAES, INSERM, 2003.
34. **F. H.J.A,** *Virologie humaine*, Masson. Paris, France, 2009.
35. **European Consensus Group on Hepatitis B Immunity,** "Are booster immunisations needed for lifelong hepatitis B immunity?" *The Lancet*. 2000; 355(9203): 561–65.
36. **Chevaliez S, Pawlotsky J-M.** Place des outils virologiques dans la prise en charge de l'hépatite chronique B. *Hépatol Gastro*. 29 avr. 2008 ; 14 (5) : 16-22.

37. Prise en charge des personnes infectées par les virus de l'hépatite B ou de l'hépatite C, p.113-139.
38. Diagnostic et suivi virologiques des hépatites virales. Gastroentérol Clin Biol 2003 ; 27 : 177-200.
39. **Decoster A, Lemahieu JC, Dehecq E, Gontier P et coll.** Virus des hépatites. Disponible sur : <http://anne.decoستر.free.fr/d1viro/vhepat0.html>
40. **Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML et al.** Hepatitis B and D Viruses. Manual of CLINICAL MICROBIOLOGY. 9th éd. Washington, D.C.; 2007. p.1641-1659.
41. **Dao S, Bougoudogo F, Traoré S, Coulibaly K et coll.** Portage de l'AgHBs au Mali: bilan de dix ans de dépistage à l'Institut national de recherche en santé publique (INRSP). J Afr Cancer. 1 mai 2009 ; 1 (2) : 68-71.
42. Hepatitis B Foundation [en ligne]. Disponible sur l'URL : [http:// www.hepb.org](http://www.hepb.org)
43. **BEH [en ligne]**. Calendrier des vaccinations et recommandations vaccinales 2009 selon l'avis du haut conseil de santé publique. Bulletin épidémiologique hebdomadaire 2009 ; 16-17 : 145-176.
44. **Puro V, De Carli G, et al.** European recommendations for the management of healthcare workers occupationally exposed to hepatitis B virus and hepatitis C virus. Euro Surveill 2005 ; 10(10) : 260-4.
45. **DGS [en ligne]**. Direction Générale de la Santé, comité technique des vaccinations. Guide des vaccinations. Saint-Denis, coll. Varia, 2008 : 448 p. disponible sur url : www.sante.gouv.fr ou www.inpes.sante.fr
46. **WHO [en ligne]**. Outbreak news. Wkly Epidemiol Rec 2004; 28: 253-264
47. Hepatitis B virus infection, October 2, 2008. N Engl J Med. 2008; 359: 1486-1500.
48. **Trepo C, Merle P, Zoulim F.** Hépatite B. Disponible sur l'URL : http://fr.wikipedia.org/wiki/Hepatitis_B.
49. Loi n°02-050 AN RM portant loi hospitalière du 22 juillet 2002.
50. **Randrianirina F, Carod JF, Ratsima E, Chretien JB, Richard V, Talarmin A.** Evaluation of the performance of four rapid tests for detection of hepatitis B surface antigen in Antananarivo, Madagascar. J Virol Methods. 2008; 151(2): 294-7.
51. **Maiga F O.** Contribution du laboratoire Rodolphe Merieux dans le diagnostic biologique de l'infection par le virus de l'hépatite B. Thèse Pharmacie, Bamako ; 2014
52. **El Guneid AM, A Gunaid, O'Neill AM, Zureikat NI et al.** Prevalence of hepatitis B, C, and D virus markers in Yemeni patients with chronic liver disease. J Med Virol. août 1993; 40 (4): 330-333

- 53. Dao S, Bougoudogo F, Traoré S, Coulibaly K et coll.** Portage de l'AgHBs au Mali: bilan de dix ans de dépistage à l'Institut national de recherche en santé publique (INRSP). *J Afr Cancer Afr J Cancer*. 1 mai 2009; 1 (2): 68-71
- 54. Guindo O.** Infection VIH et VHB chez les donneurs de sang au CNTS de Bamako. Thèse Pharm. Bamako ; 2003
- 55. Sidibé S.** Les marqueurs sérologiques de l'hépatite B au Mali. Thèse Médecine, Bamako ; 1980
- 56. Dembelé R.** Profil épidémiologique et sérologique du virus de l'hépatite B dans un milieu urbain. Thèse Medecine. Bamako ; 2011
- 57. OMS :** Hépatite B. Aide-mémoire N°204, révisé Octobre 2000 ; p1-3
- 58. Gentilini M.** Médecine tropicale. Paris: Flammarion; 1993. 928p
- 59. Kew MC, Rets P, Macnab GM, Settel HC et al.** The witch doctor and tribal scarification of the skin and the hepatitis antigen. *South African-Medical Journal*. 1973 ; 47 : 2419- 420



ANNEXES

VIII. ANNEXES

Annexe I : Anticorps anti-HBc Total II

REF 30 314 09577 F

VIDAS® Anti-HBc Total II (HBCT)

VIDAS Anti-HBc Total II (HBCT) est un test immunoenzymatique qualitatif, automatisé sur les instruments de la famille VIDAS, permettant la détection des anticorps totaux dirigés contre l'antigène core du virus de l'hépatite B (anti-HBc) dans le sérum ou le plasma humain par la méthode ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay).

INTRODUCTION ET OBJET DU TEST

Le virus de l'hépatite B est responsable d'hépatites aiguës et chroniques. Les hépatites aiguës peuvent être asymptomatiques ou présenter des symptômes de gravité variable pouvant conduire à une hépatite fulminante dans 0,1 à 0,5 % des cas. La chronicité survient dans 5 à 10 % des cas chez l'adulte mais jusqu'à 90 % des cas chez l'enfant lors de transmission périnatale. Actuellement, environ 300 millions de personnes dans le monde sont porteurs chroniques du virus (1). L'hépatite chronique peut être asymptomatique ou conduire à des lésions du foie de gravité plus ou moins importante pouvant entraîner une cirrhose puis une évolution possible, dans 5 % des cas, vers un hépatocarcinome (2). Le virus de l'hépatite B peut être transmis par voie parentérale, périnatale et sexuelle. Les personnes les plus exposées incluent le personnel de santé, les toxicomanes, les personnes à partenaires sexuels multiples, les polytransfusés ou hémodialysés, l'entourage familial d'un sujet contaminé et les nouveau-nés de mère infectée (2).

INTERET CLINIQUE

Les anticorps totaux dirigés contre l'antigène core du virus de l'hépatite B (anti-HBc de classe IgM et IgG) peuvent être détectés dans le sérum de patients atteints d'hépatite B aiguë, chronique ou de patients guéris. Les anticorps totaux anti-HBc constituent par conséquent un témoin épidémiologique d'une infection en cours ou ancienne à VHB.

Lors d'une hépatite aiguë, les anti-HBc (IgM et IgG) sont généralement détectés 2 à 4 semaines après l'apparition des antigènes HBs et HBe (3). Tandis que les IgM anti-HBc sont transitoires et diminuent progressivement qu'il y ait guérison ou passage à la chronicité, des titres élevés d'IgG anti-HBc sont détectés durant l'infection et persistent après guérison (2). Les IgG anti-HBc peuvent perdurer pendant plusieurs années, voire toute la vie.

Lors d'une hépatite chronique, seul le titrage des anticorps anti-HBc de classe IgM pourra mettre en évidence une phase active de la maladie (4).

Les anticorps anti-HBc ne sont pas protecteurs. Seuls les anticorps anti-HBs permettent d'affirmer l'immunité.

PRINCIPE

Le principe du dosage associe la méthode immunoenzymatique par inhibition à une détection finale en fluorescence (ELFA).

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

Elles sont constituées d'une succession de cycles d'aspiration/refoulement du milieu réactionnel.

Après dilution, l'échantillon est incubé avec le cône. Celui-ci, sensibilisé au préalable par de l'antigène recombinant HBc, fixe alors les anticorps anti-HBc (IgM et IgG) présents dans l'échantillon. Les composants non liés de l'échantillon sont éliminés par lavages.

La phase solide est ensuite incubée avec le conjugué : anticorps monoclonal anti-HBc marqué à la phosphatase alcaline. Ce conjugué va entrer en compétition avec les anticorps du sérum fixés sur la phase solide par l'antigène HBc. Le conjugué non fixé est éliminé par lavage.

Lors de l'étape finale de révélation, le substrat (4-Méthylombelliferyl phosphate) est aspiré puis refoulé dans le cône ; l'enzyme du conjugué catalyse la réaction d'hydrolyse de ce substrat en un produit (4-Méthylombellifère) dont la fluorescence émise est mesurée à 450 nm.

La valeur du signal de fluorescence est inversement proportionnelle à la quantité d'anticorps anti-HBc présents dans l'échantillon. A la fin du test, les résultats sont analysés automatiquement par l'instrument et exprimés en indice par rapport à un standard.

COMPOSITION ET RECONSTITUTION DES REACTIFS DU COFFRET (60 TESTS)

60 cartouches HBCT	STR	Prêtes à l'emploi.
60 cônes HBCT 2 x 30	SPR	Prêts à l'emploi. Cônes sensibilisés par de l'antigène HBc recombinant.
Contrôle positif HBCT 1 x 1,5 ml (liquide)	C1	Prêt à l'emploi. Sérum humain* contenant des anticorps anti-HBc + sulfate de gentamicine 0,2 g/l + azoture de sodium 1 g/l. Indice strictement inférieur à 1.
Contrôle négatif HBCT 1 x 1,5 ml (liquide)	C2	Prêt à l'emploi. Sérum humain* ne contenant pas d'anticorps anti-HBc + sulfate de gentamicine 0,2 g/l + azoture de sodium 1 g/l. Indice : l'intervalle de confiance est indiqué sur la carte MLE avec la mention : "Control C2 (-) Test Value Range".
Standard HBCT 2 x 2 ml (lyophilisé)	S1	Sérum humain* contenant des anticorps anti-HBc + sulfate de gentamicine 0,2 g/l. Le standard doit être repris par 2 ml d'eau distillée stérile (mesurés exactement). Le laisser dissoudre au moins 20 min, puis agiter au vortex. Le standard se conserve 1 mois à 2-8°C après reprise. Aliquoté et congelé à -25 □□6°C, il pourra être conservé 6 mois. Eviter les cycles successifs de congélation / décongélation.
1 Carte MLE (Master Lot Entry)		Spécifications des données usine nécessaires à la calibration du test : se référer au Manuel Utilisateur pour la lecture.
1 Notice		

* L'absence d'antigène HBs, d'anticorps anti-VIH1, VIH2 et d'anticorps anti-VHC a été vérifiée. Cependant, aucun test ne pouvant apporter une garantie absolue, ce produit doit être manipulé avec les précautions d'usage relatives aux produits potentiellement infectieux.

Le cône

Le cône est sensibilisé au moment de la fabrication par de l'antigène HBc recombinant. Chaque cône est identifié par le code "HBCT". Utiliser uniquement le nombre de cônes nécessaire et laisser les cônes inutilisés dans leur sachet.

Refermer complètement le sachet après ouverture.

La cartouche

La cartouche est composée de 10 puits recouverts d'une feuille d'aluminium scellée et étiquetée. L'étiquette comporte un code à barres reprenant principalement le code du test, le numéro de lot et la date de péremption du coffret. Le premier puits comporte une partie prédécoupée pour faciliter l'introduction de l'échantillon. Le dernier puits est une cuvette optique permettant la lecture en fluorimétrie. Les différents réactifs nécessaires à l'analyse sont contenus dans les puits intermédiaires.

Profil Sérologique du VHB au Laboratoire de l'Hôpital de Sikasso

Puits	Réactifs
1	Puits échantillon.
2	Diluant échantillon : tampon TRIS (50 mmol/l) pH 7,4 + stabilisants protéiques et chimiques + azoture de sodium 0,9 g/l (300 µl).
3	Solution de lavage : tampon TRIS (50 mmol/l) pH 7,4 + stabilisants protéiques et chimiques + azoture de sodium 0,9 g/l (600 µl).
4 - 6 - 7 - 8 - 9	Solution de lavage : tampon TRIS (50 mmol/l) pH 7,4 + stabilisants protéiques et chimiques + azoture de sodium 1 g/l (600 µl).
5	Conjugué : anticorps monoclonal de souris anti-HBc marqué à la phosphatase alcaline + azoture de sodium 0,9 g/l (400 µl).
10	Cuvette de lecture avec substrat : 4-Méthyl-ombelliferyl phosphate (0,6 mmol/l) + diéthanolamine DEA* (0,62 mol/l soit 6,6 %) pH 9,2 + azoture de sodium 1 g/l (300 µl).

* Réactif irritant :

- **R 36** : irritant pour les yeux.
- **S 26** : en cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau et consulter un spécialiste.

Pour plus d'informations consulter la fiche de sécurité disponible sur demande.

MATERIELS ET CONSOMMABLES NECESSAIRES MAIS NON FOURNIS

- Pipette à embout jetable permettant la distribution de 2 ml et 150 µl.
- Gants non talqués à usage unique.
- Pour d'autres matériels et consommables spécifiques se référer au Manuel Utilisateur de l'instrument.
- Instrument de la famille VIDAS.

PRECAUTIONS D'UTILISATION

- Pour diagnostic *in vitro* uniquement.
- Pour usage professionnel uniquement.
- Ce coffret contient des composants d'origine humaine. Aucune des méthodes d'analyse actuellement connues ne peut garantir de façon absolue que ces produits ne contiennent aucun agent pathogène transmissible. Il est recommandé de les manipuler avec les précautions d'usage relatives aux produits potentiellement infectieux (se reporter au Manuel de Sécurité Biologique en Laboratoire - OMS - Genève - dernière édition).
- Ce coffret contient des composants d'origine animale.

La maîtrise de l'origine et/ou de l'état sanitaire des animaux ne pouvant garantir de façon absolue que ces produits ne contiennent aucun agent pathogène transmissible, il est recommandé de les manipuler avec les précautions d'usage relatives aux produits potentiellement infectieux (ne pas ingérer ; ne pas inhaler).

- Ne pas utiliser les cônes dont le sachet est percé.

- Ne pas utiliser de cartouches visiblement altérées (feuille aluminium ou plastique endommagé).
- Ne pas utiliser les réactifs après la date de péremption indiquée sur l'étiquette étui.
- Ne pas mélanger les réactifs ou consommables de lots différents.
- Ne pas utiliser **de gants talqués**, le talc pouvant entraîner de faux résultats pour certains tests immunoenzymatiques.
- Les réactifs du coffret contiennent un conservateur (azoture de sodium) susceptible de réagir avec les tuyauteries en plomb ou en cuivre et de former des azotures métalliques explosifs. Il est recommandé de rincer à l'eau tout rejet.
- Le substrat (puits 10 de la cartouche) contient un agent irritant (diéthanolamine). Prendre connaissance de la phrase de risque "R" et des conseils de prudence "S" cités ci-dessus.
- Les projections doivent être traitées avec un liquide détergent ou une solution d'eau de Javel contenant au moins 0,5 % d'hypochlorite de sodium. Se référer au Manuel d'Utilisation pour éliminer les projections sur ou à l'intérieur de l'instrument. Ne pas autoclaver de produit javellisé.
- L'instrument doit être régulièrement nettoyé et décontaminé (se reporter au Manuel d'Utilisation).

CONDITIONS DE STOCKAGE

- Conserver le coffret VIDAS Anti-HBc Total II à 2-8°C.
- **Ne pas congeler les cônes et les cartouches.**
- **Laisser à 2-8°C les réactifs non utilisés.**
- A l'ouverture du coffret, vérifier l'intégrité et la bonne fermeture du(des) sachet(s) de cônes. Dans le cas contraire, ne pas utiliser les cônes.
- **Après chaque utilisation, refermer complètement le sachet avec son déshydratant pour maintenir la stabilité des cônes et replacer la totalité du coffret à 2-8°C.**
- Tous les composants sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette s'ils sont conservés dans les conditions préconisées. Se référer au tableau de composition du coffret pour les modes de conservation particuliers.

ECHANTILLONS

Nature et prélèvement des échantillons

Utiliser des sérums (tube sec, gel séparateur) ou plasmas (anticoagulants validés : EDTA, héparinate de lithium, citrate) non contaminés.

Il n'a pas été observé pour ce dosage d'influence significative :

- de l'hémolyse (après surcharge d'échantillons en hémoglobine de 0 à 340 $\mu\text{mol/l}$ de monomère),
- de la lipémie (après surcharge d'échantillons en lipides de 0 à 5 mg/ml d'équivalent triglycérides),
- de la bilirubinémie (après surcharge d'échantillons en bilirubine de 0 à 450 $\mu\text{mol/l}$).

Ne pas décomplémenter les échantillons.

Stabilité des échantillons

Les échantillons contenant des impuretés devront être centrifugés. Les échantillons peuvent être conservés 7 jours dans des tubes bouchés à 2-8°C ; au-delà, congeler les sérums ou plasma à $-25 \pm 6^\circ\text{C}$ (**une seule congélation**). Une étude réalisée sur des échantillons congelés pendant deux mois n'a montré aucune influence sur la qualité des résultats.

MODE OPERATOIRE

Pour des instructions complètes, se référer au Manuel d'Utilisation de l'instrument.

Saisie des données MLE

A l'ouverture d'un nouveau lot, les spécifications (ou données usine) doivent être entrées dans l'instrument à l'aide des données MLE. Si cette opération n'était pas effectuée **avant de commencer les tests**, l'instrument ne pourrait pas éditer de résultats. Ces spécifications ne sont entrées qu'une seule fois pour chaque lot.

Il est possible de saisir les données MLE manuellement ou de façon automatique en fonction de l'instrument (se référer au Manuel d'Utilisation).

Calibration

La calibration, à l'aide du standard fourni dans le coffret, doit être effectuée à l'ouverture de chaque nouveau lot après entrées des spécifications du lot puis tous les 14 jours. Cette opération permet d'ajuster la calibration à chaque instrument et à l'évolution éventuelle du réactif dans le temps.

Le standard, identifié par S1, sera analysé **en triple** (voir Manuel d'Utilisation). La valeur du standard doit être comprise dans les limites de RFV ("Relative Fluorescence Value") fixées. Si ce n'est pas le cas : refaire une calibration.

Réalisation du test

1. **Sortir uniquement les réactifs nécessaires, les laisser 30 minutes à température ambiante avant utilisation.**

2. Utiliser une cartouche "HBCT" et un cône "HBCT" pour chaque échantillon, contrôle ou standard à tester.

Vérifier que le sachet de cônes a été refermé complètement après chaque utilisation.

3. Le test est identifié par le code "HBCT" sur l'instrument. Le standard identifié obligatoirement par "S1", doit être utilisé **en triple**. Si le contrôle positif doit être testé, il sera identifié par C1. Si le contrôle négatif doit être testé, il sera identifié par C2.

4. Homogénéiser à l'aide d'un agitateur de type vortex, le standard et/ou les contrôles et les échantillons (pour sérum ou plasma séparé du culot).

5. La prise d'essai du standard, du contrôle et des échantillons est de 150 µl pour ce test.

6. Placer dans l'instrument les cônes "HBCT" et les cartouches "HBCT". Vérifier la concordance des codes (couleurs et lettres) entre le cône et la cartouche.

7. Démarrer l'analyse (voir Manuel d'Utilisation). Toutes les étapes sont alors gérées automatiquement par l'instrument.

8. Reboucher les flacons et les remettre à la température préconisée après pipetage.

9. Les résultats sont obtenus en 90 minutes environ. A la fin de l'analyse, retirer les cônes et les cartouches de l'instrument.

10. Eliminer les cônes et cartouches utilisés dans un récipient approprié.

RESULTATS ET INTERPRETATION

Dès le test terminé, les résultats sont analysés automatiquement par le système informatique.

L'instrument effectue deux mesures de fluorescence dans la cuvette de lecture pour chacun des tests. La première lecture prend en compte le bruit de fond dû à la cuvette substrat avant mise en contact du substrat avec le cône.

La seconde lecture est effectuée après incubation du substrat avec l'enzyme présente dans le cône. Le calcul de la RFV (Relative Fluorescence Value) est le résultat de la différence des deux mesures. Il apparaît sur la feuille de résultat.

Les résultats sont calculés automatiquement par l'instrument et exprimés en indice par rapport à un standard.

La RFV du patient est interprétée par le système VIDAS de la manière suivante :

$$i = \text{valeur du test} = \text{RFV patient} / \text{RFV standard S1}$$

Cette valeur du test ainsi que l'interprétation figurent également sur la feuille de résultat.

L'interprétation en fonction de la valeur du test est la suivante :

Profil Sérologique du VHB au Laboratoire de l'Hôpital de Sikasso

Indice	Interprétation
$i < 1$	Présence d'anticorps anti-HBc
$1 < i < 1,4$	Résultat équivoque
$i > 1,4$	Absence d'anticorps anti-HBc

Tout résultat équivoque doit être confirmé sur un second prélèvement.

L'interprétation des résultats du test doit être faite en tenant compte du contexte clinique et éventuellement des résultats d'autres tests.

CONTROLE DE QUALITE

Un contrôle positif et un contrôle négatif sont inclus dans chaque coffret VIDAS HBCT.

Ces contrôles doivent être utilisés à l'ouverture de chaque nouveau coffret afin de vérifier l'absence d'altération des réactifs. Chaque calibration doit être également vérifiée à l'aide de ces contrôles. Pour que l'instrument puisse vérifier la valeur des contrôles, il faut les identifier par C1 et C2.

Si les valeurs des contrôles s'écartent des valeurs attendues, les résultats ne peuvent pas être validés.

Remarque

Il est de la responsabilité de l'utilisateur de s'assurer que le contrôle de qualité est mis en œuvre conformément à la législation locale en vigueur.

LIMITE DU TEST

Une interférence peut être rencontrée avec certains sérums contenant des anticorps dirigés contre des composants du réactif, c'est pourquoi les résultats de ce test doivent être interprétés en tenant compte du contexte clinique et éventuellement des résultats d'autres tests.

PERFORMANCES

Les études de VIDAS Anti-HBc Total II ont donné les résultats suivants.

1. Spécificité sur population de donneurs de sang

Les résultats obtenus sur 5064 échantillons de donneurs de sang en provenance de 4 établissements de transfusion sanguine, sont les suivants :

VIDAS Anti-HBc Total II	Interprétation finale : autres techniques EIA / autres marqueurs	
	Positif	Négatif
Positif	47	3
Equivoque	0	8
Négatif	0	5006

Les huit échantillons donnant un résultat équivoque ont été écartés pour le calcul des performances.

Profil Sérologique du VHB au Laboratoire de l'Hôpital de Sikasso

Spécificité relative du réactif VIDAS Anti-HBc Total II sur cette population : 99,94 %
(intervalle de confiance à 95% : 99,82 %- 99,98 %.)

2. Sensibilité :

a) Résultats obtenus avec le panel SNTS 1996 dans 2 établissements de transfusion sanguine :

Caractéristiques	Effectif	Résultats VIDAS	Echantillons
Anticorps anti-HBc positifs : dépistage concordant entre 8 trousses EIA étudiées	7	7 pos.	14, 15, 16, 17, 18, 19 et 20
Anticorps anti-HBc : dilutions de plasmas anti-HBc positifs, anti-HBs et/ou anti-HBe positifs	5	2 pos. (1 et 2), 2 équiv. (3 et 4) 1 nég. (5)	1, 2 à 5 (dilutions croissantes de l'échantillon 1)
	4	2 pos. (21 et 22), 1 équiv. (23) 1 nég. (24)	21 à 24 (dilutions croissantes du même échantillon)
	4	2 pos. (25 et 26), 1 équiv. (27) 1 nég. (28)	25 à 28 (dilutions croissantes du même échantillon)
	4	3 pos. (29, 30, 31), 1 nég. (32)	29 à 32 (dilutions croissantes du même échantillon)
Anticorps anti-HBc : dépistage discordant entre 8 trousses EIA étudiées	4	1 pos. (8) 1 pos. /équiv. (9) 2 nég. (10,12)	8, 9, 10, 12
Absence d'anticorps anti-HBc	1	1 nég.	6

b) Etude clinique :

3 études ont été réalisées :

Etude 1 : 228 échantillons répertoriés anti-HBc positifs ont été testés comparativement à une autre technique de référence. Les échantillons discordants entre les 2 techniques ont été confirmés par une 3^{ème} technique de référence.

Catégorie clinique	VIDAS Anti-HBc Total II positifs
Hépatite virale B aiguë N = 8	8 (100 %)
Porteurs chroniques du VHB avec marqueur de réplication (AgHBe positif et/ou ADN viral positif) N = 49	49 (100 %)
Porteurs chroniques du VHB traités (traitement antiviral ou immunoglobulines anti-HBs) N = 47	47 (100 %)
Porteurs chroniques du VHB sans marqueur classique de réplication (Ag HBe négatif, ADN viral par hybridation négatif) N= 42	42 (100 %)
Sujets ayant acquis une immunité naturelle contre le VHB N= 56	54* (100 %)
"anti-HBc isolés" (Ag HBs et anti-HBs négatifs) N = 26	25 (96 %)

Profil Sérologique du VHB au Laboratoire de l'Hôpital de Sikasso

* Deux échantillons ininterprétables après confirmation (VIDAS Anti-HBc Total II équivoque, autres tests négatif et positif) ont été exclus pour le calcul des performances.

Sensibilité relative du réactif VIDAS Anti-HBc Total II : 99,56 % (intervalle de confiance à 95 % : 97,46 % - 99,9 %).

Etude 2 : étude réalisée sur 130 échantillons répertoriés anti-HBc positifs.

Classement des échantillons	VIDAS Anti-HBc Total II		
	Positif	Equivoque	Négatif
Positif	129	1*	0

* Echantillon non pris en compte dans le calcul de la sensibilité.

La sensibilité clinique est de **100%** (intervalle de confiance à 95% : 96,99 % - 100 %).

Etude 3 : étude réalisée sur 87 échantillons répertoriés anti-HBc positifs.

Classement des échantillons	VIDAS Anti-HBc Total II		
	Positif	Equivoque	Négatif
Positif	85*	0	0

* Deux échantillons ininterprétables après confirmation ont été exclus pour le calcul des performances. La sensibilité clinique est de **100%** (intervalle de confiance à 95% : 95,75 % - 100 %.)

c) Sensibilité diagnostique

33 échantillons frais de statut positif (prélèvement < 24 heures) ont été testés, 31 ont été trouvés positifs, 1 a été trouvé équivoque et 1 a été trouvé négatif avec VIDAS anti-HBc Total II. 31 échantillons frais négatifs (prélèvement < 24 heures) ont été testés et trouvés négatifs avec VIDAS anti-HBc Total II.

3. Précision

La précision a été évaluée avec un échantillon positif, un échantillon équivoque et un échantillon négatif. Chaque échantillon a été testé en double dans deux séries différentes par jour, ce pendant 20 jours et sur 3 sites.

La répétabilité (précision intra-essai) et la reproductibilité (précision totale) ont été calculées selon les recommandations du document NCCLS EP5-T2, volume 12-4.

Les résultats combinés des trois sites sont les suivants :

a) Répétabilité :

Echantillon	N	Indice moyen	CV (%)
Négatif	240	2,569	4,36
Equivoque	240	1,180	5,65
Positif	240	0,082	7,53

b) Reproductibilité :

Il s'agit de la précision totale, tenant compte de toutes les sources de variabilité.

Echantillon	N	Indice moyen	CV (%)
Négatif	240	2,569	7,42
Equivoque	240	1,180	8,10
Positif	240	0,082	9,25

4. Réaction croisées

	VIDAS Anti-HBc Total II positifs
VHC + (Anti-HBc -)	0 / 10
EBV + (Anti-HBc -)	0 / 10
HIV + (Anti-HBc -)	0 / 10
FR + (Anti-HBc -)	0 / 21
ANA + (Anti-HBc -)	0 / 20
Rubéole IgG + (Anti-HBc -)	0 / 11
CMV IgG + (Anti-HBc -)	0 / 11
CMV IgM + (Anti-HBc -)	0 / 10
Femmes enceintes (Anti-HBc -)	0 / 24
Vaccinés: Anti-HBs + (Anti-HBc -)	1 / 20
HSV + (Anti-HBc -)	0 / 6
Patients ayant reçu du facteur VIII (Anti-HBc -)	0 / 15

ELIMINATION DES DECHETS

Eliminer les réactifs utilisés ou non utilisés ainsi que les matériels à usage unique contaminés en suivant les procédures relatives aux produits infectieux ou potentiellement infectieux.

Il incombe à chaque laboratoire de gérer les déchets et les effluents qu'il produit selon leur nature et leur dangerosité, et d'en assurer (ou faire assurer) le traitement et l'élimination selon les réglementations applicables.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. MILICH D.R., Immune response to the hepatitis B virus : infection, animal models, vaccination, VIRAL HEPATITIS, 1997, 3, 63-103.
2. HOLLINGER F.B., Hepatitis B virus, in Fields Virology, Third Edition, Lippincott-Raven Publishers, Philidelphia, 1996, 2739-2807.
3. KURSTAKE E., Viral Hepatitis, Current Status and Issues, Springer-Verlag Wien New York, 1993, 11, 93-104.
4. BRUNETTO, M.R., CERENZIA M.T., OLIVERI F., PIANTONI P., RANDONE A., CALVO P., MANZINI P., ROCCA G., GALLI C. and BONINO F., Monitoring the natural course and response to therapy of chronic hepatitis B with an automated semi-quantitative assay for IgM anti-HBc, Journal of Hepatology, 1993, 19, 431-436.

Annexe II : Antigène HBe

REF 30 305 09078 G

VIDAS® HBe

VIDAS HBe/Anti-HBe est un test qualitatif automatisé sur les instruments de la famille VIDAS, permettant la détection de l'antigène e du virus de l'hépatite B (Ag HBe) ou des anticorps (anti-HBe) dans le sérum ou le plasma humain (héparinate de lithium, citrate de sodium ou EDTA) par technique ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay).

INTRODUCTION ET OBJET DU TEST

Environ 5 % de la population mondiale est infectée par le virus de l'hépatite B (HBV), responsable de pathologies nécro-inflammatoires du foie, de durée et de sévérité variables. Les patients porteurs d'une hépatite chronique active présentent un risque important de développer une cirrhose ou un carcinome hépatocellulaire. La réponse immunitaire dirigée contre les antigènes du HBV est responsable de l'élimination du virus, mais aussi des lésions hépatiques au cours de l'infection. La transmission peut être sexuelle, parentérale ou périnatale.

La transmission périnatale peut atteindre 90% chez les femmes porteuses chroniques du HBV, dans les zones de forte endémie ou les régions dans lesquelles le dépistage chez les femmes enceintes n'est pas systématique. L'enfant devient porteur chronique d'antigène HBs dans 90 % des cas (1).

Le gène C de l'HBV code pour deux protéines fonctionnellement différentes : 1) Une protéine particulière (Ag HBc) qui forme la nucléocapside. 2) une protéine e (Ag HBe) soluble détectée dans le sérum des patients infectés par le virus sauvage, lors d'une répllication virale active (2). La fonction de l'antigène HBe dans le cycle de répllication virale n'est pas clairement définie. Il n'est pas indispensable au virus, pourtant cet antigène est une cible immunologique majeure intervenant dans l'élimination du virus.

Généralement, l'antigène HBe est détecté de manière précoce au cours de l'hépatite B aiguë. Il coïncide avec l'apparition de l'antigène HBs ou la suit. Dans les cas aigus évoluant vers la guérison, l'antigène HBe disparaît le plus souvent après quelques semaines avec une séroconversion vers anti-HBe. Dans les cas d'hépatite B chronique, l'antigène HBe peut persister plusieurs mois voire même plusieurs années, témoignant du stade de répllication active de l'infection chronique (2). Les personnes trouvées Ag HBe positives sont considérées comme étant fortement infectieuses pour l'hépatite B (3). L'antigène HBe est utilisé pour la surveillance des hépatites chroniques et les traitements antiviraux.

L'objectif du traitement est de prévenir la progression vers la cirrhose du foie. La séroconversion Ag HBe/anti-HBe est généralement considérée comme un témoin de la transition vers un stade de latence virale avec normalisation du taux de transaminases. La séroconversion est associée à la diminution du risque d'évolution vers la cirrhose ou vers la décompensation de la maladie (4).

Un résultat trouvé anti-HBe positif pour des patients en cours de guérison d'une hépatite aiguë indique une guérison normale, surtout si l'antigène HBs et l'antigène HBe ne sont plus détectables. Pour un porteur du HBV, un résultat anti-HBe positif indique habituellement une inactivité du virus et un bas niveau d'infectivité (5).

Cependant, un résultat anti-HBe positif en présence d'un résultat positif en ADN viral, peut indiquer une réplication virale active et une progression de la maladie (5). C'est le cas notamment, des infections provoquées par des virus mutants incapables de synthétiser l'antigène HBe. Ces mutants peuvent prévaloir par rapport à la souche sauvage chez les patients atteints d'hépatite B aiguë, sévère ou chronique, et chez les porteurs de l'antigène HBs en cours de séroconversion Ag HBe / anti-HBe (6).

Le test VIDAS HBe/anti-HBe permet de dépister la présence de l'antigène HBe ou de l'anticorps anti-HBe qui sont, en dehors du cas des infections à virus HBe mutants, les marqueurs respectifs d'une phase de réplication virale ou d'une évolution vers la guérison.

PRINCIPE

Antigène HBe

Le principe du dosage HBe associe la méthode immunoenzymatique à une détection finale en fluorescence (ELFA).

Le cône à usage unique sert à la fois de phase solide et de système de pipetage. Les autres réactifs de la réaction immunologique sont prêts à l'emploi et pré-répartis dans la cartouche, à l'exception du standard et des contrôles.

Toutes les étapes du test sont réalisées automatiquement par l'instrument. Elles sont constituées d'une succession de cycles d'aspiration/refoulement du milieu réactionnel.

Après une première étape de dilution réalisée dans l'instrument, l'échantillon est aspiré et refoulé plusieurs fois à l'intérieur du cône. Cette opération permet à l'antigène HBe, s'il est présent dans l'échantillon, de se lier simultanément à l'anticorps monoclonal fixé sur le cône et à un autre anticorps monoclonal conjugué à la biotine. Des étapes de lavage éliminent les composants non fixés. La présence de biotine est révélée par incubation avec de la streptavidine liée à la phosphatase alcaline. Une nouvelle étape de lavage élimine les composants non fixés.

Profil Sérologique du VHB au Laboratoire de l'Hôpital de Sikasso

Lors de l'étape finale, le substrat (4-Méthyl-ombelliferyl phosphate) est aspiré puis refoulé dans le cône ; la phosphatase alcaline catalyse la réaction d'hydrolyse de ce substrat en un produit (4-Méthyl-ombelliférol) dont la fluorescence émise est mesurée à 450 nm. La valeur du signal de fluorescence est proportionnelle à la concentration d'antigène présente dans l'échantillon.

A la fin du test, les résultats sont calculés automatiquement par l'instrument, puis imprimés.

COMPOSITION ET RECONSTITUTION DES REACTIFS DU COFFRET (30 TESTS)

30 cartouches HBE	STR	Prêtes à l'emploi.
30 cônes HBE 1 x 30	SPR	Prêts à l'emploi. Cônes sensibilisés par de l'anticorps monoclonal de souris anti-HBe.
Contrôle positif Ag HBe 1 x 1,5 ml (liquide)	C 1	Prêt à l'emploi. Base protéique stabilisée surchargée par de l'antigène recombinant HBe + azoture de sodium 0,9 g/l. Indice : l'intervalle de confiance est indiqué sur la carte MLE avec la mention : "Control C1 (+) Test Value Range".
Contrôle négatif HBe/Anti-HBe 1 x 3 ml (liquide)	C 2	Prêt à l'emploi, contrôle négatif aussi bien pour les tests Ag HBe et anti-HBe. Sérum humain* délipidé + azoture de sodium 0,9 g/l.
Contrôle positif Anti-HBe 1 x 1,5 ml (liquide)	C 3	Prêt à l'emploi. Base protéique stabilisée, surchargée en anticorps monoclonal de souris anti-HBe + azoture de sodium 0,9 g/l. Indice : l'intervalle de confiance est indiqué sur la carte MLE avec la mention : "Control C3 (+) Test Value Range"
Standard Ag HBe 4 x 1 ml (lyophilisé)	S 1	Base protéique stabilisée, surchargée par de l'antigène recombinant HBe + stabilisants protéiques. Diluer le contenu du flacon avec 1 ml de diluant du standard pour reconstituer le standard. Après reconstitution, le standard peut être conservé à 2-8°C durant 6 mois.
Standard Anti-HBe 1 x 2 ml (liquide)	S 2	Prêt à l'emploi. Sérum humain* délipidé + azoture de sodium 0,9 g/l.
Diluant du Standard S1 1 X 5 ml	R1	Prêt à l'emploi. Il contient 0,9 g/l d'azoture de sodium
1 Carte MLE (Master Lot Entry)		Spécifications des données usine nécessaires à la calibration du test : se référer au Manuel Utilisateur pour la lecture.
1 Notice		

* L'absence d'antigène HBs, d'anticorps anti-VIH1, anti-VIH2 et d'anticorps anti-VHC a été vérifiée. Cependant, aucun test ne pouvant apporter une garantie absolue, ce produit doit être manipulé avec les précautions d'usage relatives aux produits potentiellement infectieux.

Le cône

Le cône est sensibilisé au moment de la fabrication par un anticorps monoclonal anti-HBe. Chaque cône est identifié par le code HBE. Utiliser uniquement le nombre de cônes nécessaire et laisser les cônes inutilisés dans leur sachet.

Refermer complètement le sachet après ouverture.

La cartouche

La cartouche est composée de 10 puits recouverts d'une feuille d'aluminium scellée et étiquetée. L'étiquette comporte un code à barres reprenant principalement le code du test, le numéro de lot et la date de péremption du coffret. Le premier puits comporte une partie prédécoupée pour faciliter l'introduction de l'échantillon. Le dernier puits est une cuvette permettant la lecture en fluorimétrie. Les différents réactifs nécessaires à l'analyse sont contenus dans les puits intermédiaires.

Description de la cartouche HBe/Anti-HBe

Puits	Réactifs
1	Puits échantillon
2	Conjugué : anticorps monoclonal de souris anti-HBe biotinylé + azoture de sodium 0,9 g/l (300 µl)
3 - 4 - 6 - 7 - 8 - 9	Solution de lavage : tampon pH = 7,8 (0,05 mol/l) + azoture de sodium 0,9 g/l (600 µl).
5	Traceur : Streptavidine liée à la phosphatase alcaline + azoture de sodium 0,9 g/l (400 µl)
10	Cuvette de lecture avec substrat : 4-Méthyl-ombelliferyl phosphate (0,6 mmol/l) + diéthanolamine (DEA*) (0,62 mol/l soit 6,6%, pH 9,2) + azoture de sodium 1 g/l (300 µl).

*** Réactif IRRITANT :**

- **R 36** : irritant pour les yeux.
- **S 26** : en cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau et consulter un spécialiste.

Pour plus d'informations, consulter la fiche de données sécurité disponible sur demande.

MATERIELS ET CONSOMMABLES NECESSAIRES MAIS NON FOURNIS

- Pipette à embout jetable permettant la distribution de 100µl, 150µl, 1 ml.
- Gants non talqués à usage unique.
- Pour d'autres matériels et consommables spécifiques se référer au Manuel Utilisateur de l'instrument.
- Instrument de la famille VIDAS.

PRECAUTIONS D'UTILISATION

- **Pour diagnostic *in vitro* uniquement.**
- **Pour usage professionnel uniquement.**
- **Ce coffret contient des composants d'origine humaine. Aucune des méthodes d'analyse actuellement connues ne peut garantir de façon absolue que ces produits**

ne contiennent aucun agent pathogène transmissible. Il est recommandé de les manipuler avec les précautions d'usage relatives aux produits potentiellement infectieux (se reporter au Manuel de Sécurité Biologique en Laboratoire - OMS - Genève - dernière édition).

- Ce coffret contient des composants d'origine animale.

La maîtrise de l'origine et/ou de l'état sanitaire des animaux ne pouvant garantir de façon absolue que ces produits ne contiennent aucun agent pathogène transmissible, il est recommandé de les manipuler avec les précautions d'usage relatives aux produits potentiellement infectieux (ne pas ingérer ; ne pas inhaler).

- Ne pas utiliser les cônes dont le sachet est percé.
- Ne pas utiliser de cartouches visiblement altérées (feuille aluminium ou plastique endommagé).
- Ne pas utiliser les réactifs après la date de péremption indiquée sur l'étiquette étui.
- Ne pas mélanger les réactifs (ou consommables) de lots différents.
- Ne pas utiliser **de gants talqués**, le talc pouvant entraîner de faux résultats pour certains tests immuno-enzymatiques.
- Les réactifs du coffret contiennent un conservateur (azoture de sodium), susceptible de réagir avec les tuyauteries en plomb ou en cuivre et de former des azotures métalliques explosifs. Il est recommandé de rincer à l'eau tout rejet.
- Le substrat (puits 10 de la cartouche) contient un agent irritant (diéthanolamine 6,6 %). Prendre connaissance de la phrase de risque "R" et des conseils de prudence "S" cités ci-dessus.
- Les projections doivent être traitées avec un liquide détergent ou une solution d'eau de Javel contenant au moins 0,5 % d'hypochlorite de sodium. Se référer au Manuel d'Utilisation pour éliminer les projections sur ou à l'intérieur de l'instrument. Ne pas autoclaver de produit javellisé.
- L'instrument doit être régulièrement nettoyé et décontaminé (se reporter au Manuel d'Utilisation).

CONDITIONS DE STOCKAGE

- Conserver le coffret VIDAS HBe/Anti-HBe à 2-8°C.
- **Ne pas congeler les réactifs.**
- **Laisser à 2-8°C les réactifs non utilisés y compris le standard S1 après reconstitution.**

- A l'ouverture du coffret, vérifier l'intégrité et la bonne fermeture du(des) sachet(s) de cônes. Dans le cas contraire, ne pas utiliser les cônes.
- **Après chaque utilisation, refermer complètement le sachet avec son déshydratant pour maintenir la stabilité des cônes et replacer la totalité du coffret à 2-8°C.**
- Tous les composants sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette étui, lorsqu'ils sont conservés dans les conditions préconisées. Se référer au tableau de composition du coffret pour les modes de conservation particuliers.

ECHANTILLONS

Nature et prélèvement des échantillons :

Sérum ou plasma avec héparinate de lithium, citrate de sodium ou EDTA.

Il est préconisé à chaque laboratoire de valider le type de tube de prélèvement utilisé.

L'utilisation de sérums inactivés par la chaleur n'a pas été validée pour ce test. Ne pas chauffer les échantillons.

Il n'a pas été observé pour ce dosage d'influence significative :

- de l'hémolyse (après surcharge d'échantillons en hémoglobine de 0 à 5,6 mg/ml de monomère),
- de la lipémie (après surcharge d'échantillons en lipides de 0 à 10 mg/ml d'équivalents triglycérides),
- de la bilirubinémie (après surcharge d'échantillons en bilirubine de 0 à 490 $\mu\text{mol/l}$).

Il est néanmoins conseillé de ne pas utiliser d'échantillons visiblement hémolysés, lipémiques et d'effectuer si possible un nouveau prélèvement.

Stabilité des échantillons

Les échantillons peuvent être stockés à 2-8°C dans des tubes bouchés 1 semaine au maximum ; au-delà, congeler les sérums ou plasma à $-25 \pm 6^\circ\text{C}$.

Eviter les congélations et décongélations successives.

Une étude réalisée sur des échantillons congelés pendant deux mois, n'a montré aucune influence sur la qualité des résultats.

MODE OPERATOIRE

Pour des instructions complètes, se référer au Manuel d'Utilisation de l'instrument.

Saisie des données MLE

A l'ouverture d'un nouveau lot, les spécifications (ou données usine) doivent être entrées dans l'instrument à l'aide des données MLE. Si cette opération n'était pas effectuée **avant de commencer les tests**, l'instrument ne pourrait pas éditer de résultats. Ces spécifications ne sont entrées qu'une seule fois pour chaque lot. Il est possible de saisir les données MLE

manuellement ou de façon automatique en fonction de l'instrument (se référer au Manuel d'Utilisation).

L'instrument pourra vérifier la valeur des contrôles, seulement si le contrôle positif Ag HBe est identifié par C1, le contrôle négatif Ag HBe/Anti-HBe par C2, le contrôle positif Anti-HBe par C3 et les standards par S1 (Ag HBe) et par S2 (Anti-HBe).

Calibration

La calibration, à l'aide des standards fournis dans le coffret, doit être effectuée à l'ouverture de chaque nouveau lot après entrée des spécifications du lot, puis tous les 14 jours. Cette opération permet d'ajuster la calibration à chaque instrument et à l'évolution éventuelle du réactif dans le temps.

Les standards, identifiés par S1 (Ag HBe) et S2 (Anti-HBe), seront analysés en double (voir Manuel d'Utilisation). La valeur du standard doit être comprise dans les limites de RFV ("Relative Fluorescence Value") fixées, et le coefficient de variation sur le doublet doit être inférieur à la norme indiquée sur la carte MLE. Si ce n'était pas le cas : refaire une calibration.

Réalisation du test HBe

1. Sortir uniquement les réactifs nécessaires, les laisser 30 minutes à température ambiante avant utilisation.

2. Utiliser une cartouche "HBE" et un cône "HBE" pour chaque échantillon, contrôle ou standard à tester.

Vérifier que le sachet de cônes a été complètement refermé après chaque utilisation.

3. Le test est identifié par le code "HBE" sur l'instrument. Le standard identifié obligatoirement par "S1" doit être utilisé **en double** et placé impérativement en début de la série. Si le contrôle positif doit être testé, il sera identifié par "C1". Si le contrôle négatif doit être testé, il sera identifié par "C2".

4. Homogénéiser à l'aide d'un agitateur de type vortex le standard, les contrôles et les échantillons (pour sérum ou plasma séparé du culot).

5. La prise d'essai du standard, des contrôles et des échantillons est de 150 µl pour ce test.

6. Placer dans l'instrument les cônes "HBE" et les cartouches "HBE". Vérifier la concordance des codes (couleurs et lettres) entre le cône et la cartouche.

7. Démarrer l'analyse (voir Manuel d'Utilisation). Toutes les étapes sont alors gérées automatiquement par l'instrument.

8. Reboucher les flacons et les remettre à 2-8°C après pipetage.

9. Les résultats sont obtenus en 90 minutes environ. A la fin de l'analyse, retirer les cônes et les cartouches de l'instrument.

10. Eliminer dans un récipient approprié les cônes et cartouches utilisés.

RESULTATS ET INTERPRETATION DU TEST HBe

Dès le test terminé, les résultats sont analysés automatiquement par le système informatique.

L'instrument effectue deux mesures de fluorescence dans la cuvette de lecture pour chacun des tests. La première lecture prend en compte le bruit de fond dû à la cuvette substrat avant mise en contact du substrat avec le cône. La seconde lecture est effectuée après incubation du substrat avec l'enzyme présente dans le cône. Le calcul de la RFV (Relative Fluorescence Value) est le résultat de la différence des deux mesures. Il apparaît sur la feuille de résultats.

L'indice du test est calculé en divisant la RFV de l'échantillon ou du contrôle par la RFV du standard : $i = \text{indice} = \text{RFV de l'échantillon} / \text{RFV du standard S1}$

Cet indice ainsi que l'interprétation figurent sur la feuille de résultats :

Indice	Interprétation
$i < 0,1$	Négatif : absence d'antigène HBe
$i > 0,1$	Positif : présence d'antigène HBe

L'interprétation des résultats du test doit être faite en tenant compte du contexte clinique et éventuellement des résultats d'autres tests.

Aucun standard international n'étant disponible pour le dosage de l'antigène HBe, le réactif VIDAS est calibré par rapport à des sérums de sérothèque.

CONTROLE DE QUALITE

Un contrôle Ag HBe positif (C1) et un contrôle Anti-HBe positif (C3) sont inclus dans chaque coffret VIDAS HBe/Anti-HBe ainsi qu'un contrôle HBe/Anti-HBe négatif (C2) utilisable pour les deux tests.

Ces contrôles doivent être utilisés à l'ouverture de chaque nouveau coffret afin de vérifier l'absence d'altération des réactifs. Chaque calibration doit être également vérifiée à l'aide de ces contrôles. Si la valeur d'un des contrôles s'écarte des valeurs attendues, les résultats ne peuvent être validés.

Remarque

Il est de la responsabilité de l'utilisateur de s'assurer que le contrôle de qualité est mis en œuvre conformément à la législation locale en vigueur.

LIMITE DU TEST

Une interférence peut être rencontrée avec certains sérums contenant des anticorps dirigés contre des composants du réactif, c'est pourquoi les résultats de ce test doivent être interprétés en tenant compte du contexte clinique et éventuellement des résultats d'autres tests.

PERFORMANCES POUR LE TEST HBe

Précision

Reproductibilité inter-essai, intra-instrument

5 échantillons sont dosés en simple dans 12 séries différentes sur un même instrument VIDAS pendant 7 semaines (la calibration a été réalisée tous les 14 jours selon la description du Mode Opérateur).

Echantillon	Indice moyen	CV %
1	0,01	20,4
2	0,01	15
3	0,22	5,1
4	0,80	4,2
5	2,12	5,5

Reproductibilité (inter-instruments)

Chacun des trois échantillons a été dosé en simple dans 3 séries et sur 4 sites différents.

Echantillon	Indice moyen	CV %
Négatif	0,00	-
Positif faible	0,29	12,5
Positif fort	1,61	8,6

Sensibilité - Spécificité

1) Analyse d'une population non sélectionnée

413 échantillons provenant de donneurs de sang ont été testés en parallèle avec VIDAS et une autre technique immuno-enzymatique (EIA).

		EIA	
		positif	négatif
VIDAS Ag HBe	positif	0	0
	négatif	3*	410

* Ces échantillons ont été trouvés négatifs par une deuxième technique EIA utilisée pour résoudre les résultats discordants ; de plus, l'ADN viral était négatif.

Spécificité relative après confirmation : 100 % (Intervalle de confiance à 95 % : 99,04 % - 100 %).

2) Etude d'une population en routine

368 échantillons ont été dosés sur deux sites différents par VIDAS HBe et une technique immuno-enzymatique.

Profil Sérologique du VHB au Laboratoire de l'Hôpital de Sikasso

5 échantillons discordants (négatifs VIDAS / positifs EIA) ont été analysés avec une seconde méthode EIA et la recherche d'ADN viral. Les résultats finaux sont les suivants :

		Interprétation finale	
		positif	négatif
VIDAS Ag HBe	positif	204	0
	négatif	4	160

Sensibilité relative après confirmation : 98,1 % (Intervalle de confiance à 95 % : 95,1 % - 99,3 %).

Spécificité relative après confirmation : 100 % (Intervalle de confiance à 95 % : 97,6 % - 100 %).

3) Etude de 203 échantillons cliniques négatifs

203 échantillons ont été dosés par VIDAS HBe et une technique immuno-enzymatique EIA.

La résolution des discordants a été faite grâce à une autre technique EIA.

		Interprétation finale	
		positif	négatif
VIDAS Ag HBe	positif	1	1
	négatif	0	161

Spécificité relative après confirmation : 99,5 % (Intervalle de confiance à 95 % : 97,2 % - 99,9 %).

REACTIONS CROISEES ET INTERFERENCES

69 échantillons potentiellement interférents ont été testés.

	VIDAS	EIA 1
	négatif	négatif
Anticorps anti-nucléaires	9	9
Anticorps anti-EBV	3	3
Anticorps anti-HCV	18	18
IgM Anti-HAV	6	6
Facteur Rhumatoïde	33	33

VALEURS ATTENDUES

L'incidence des cas d'hépatite B rapportés en Europe est d'environ 20/100 000, variant de 1/100 000 dans les Pays Scandinaves à 60/100 000 en Europe Centrale. En Europe l'endémie va en augmentant du Nord au Sud et d'Ouest en Est. En Asie du Sud-Est, en Chine, en Afrique Noire ou en Amérique du Sud la prévalence de cette endémie peut dépasser les 10%.

L'antigène HBe n'existe que chez les sujets Ag HBs positif, sa présence est un élément de pronostic défavorable car il est le marqueur d'une multiplication virale active.

L'anticorps anti-HBe est un élément de pronostic favorable, surtout s'il est d'apparition précoce.

ELIMINATION DES DECHETS

Eliminer les réactifs utilisés ou non utilisés ainsi que les matériels à usage unique contaminés en suivant les procédures relatives aux produits infectieux ou potentiellement infectieux.

Il incombe à chaque laboratoire de gérer les déchets et les effluents qu'il produit selon leur nature et leur dangerosité, et d'en assurer (ou faire assurer) le traitement et l'élimination selon les réglementations applicables.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. CHISARI F., FERRARI C. Hepatitis B virus immunopathology, Springer Semin Immunopathol, 1995, 17, 261-281.
2. ZUCKERMAN A.J., THOMAS H.C. Viral Hepatitis. Scientific Basis and Clinical Management, Churchill Livingstone, 1993, 396.
3. AHTONE J., MAYNARD J.E. Laboratory Diagnosis of Hepatitis B, JAMA, 1983, 249 : 2067-2069.
4. HEIJTINK R.A., SNOBL J., KRUIJNING J., KERKHOF-LOS C., DE MAN R.A., JANSSEN H.L.A., SCHALM S.W. Quantitative measurement of HBe Ag in chronic hepatitis B. Journal of Medical Virology, 1995, 47, 245-250.
5. CHEN D.S., LAI M.Y., LEE S.C., et al : Serum HBsAg, HBeAg, anti-HBe and Hepatitis B virus DNA in Asymptomatic Carriers in Taiwan. J. Med. Virol., 1986, 19 : 87-94.
6. BONINO F., BRUNETTO M.R. Hepatitis B Virus Precore Mutants, Viral Hepatitis and Liver Disease, 1994, 256-260.

FICHE SIGNALÉTIQUE

Nom : DIALLO

Prénom : Drissa

Email : diallodrissa99@yahoo.fr / drdiallo.93@gmail.com

Titre de la thèse : Profil Sérologique du Virus de l'Hépatite B au Laboratoire d'Analyses Biomédicales de l'Hôpital de Sikasso.

Année Universitaire : 2018-2019

Ville de Soutenance : Bamako / Mali

Lieu de Dépôt : Bibliothèque de la Faculté de Pharmacie et la Faculté de Médecine et d'Odonto-Stomatologie de Bamako.

Secteur d'intérêt : Santé publique, Sérologie-immunologie, Maladies infectieuses, Virologie.

Résumé

L'hépatite virale B est un problème majeur de santé publique. L'Organisation Mondiale de la Santé estime que 30 % de la population mondiale est séropositive et le nombre de personnes atteintes d'une infection chronique par le VHB était estimé à 257 millions.

L'Organisation mondiale de la Santé a exhorté les gouvernements à prendre des mesures pour lutter contre les hépatites notamment en favorisant un accès universel à la vaccination, au dépistage et diagnostic et à la thérapie antivirale.

Sur un total de 236 dépistages effectués, allant de juin à décembre 2018, 48 étaient positifs à l'AgHBs soit une prévalence de 20,34% et parmi ce pourcentage, 8,33% était positif à l'AgHBe. Il s'agit d'une étude descriptive. La population d'étude était constituée de patients fréquentant le laboratoire de l'hôpital de Sikasso. La recherche de l'AgHBs a été faite par le test Abbott Determine™ AgHBs et le dosage des marqueurs (AgHBe et HBc totaux) par l'automate MiniVIDAS® Blue BioMérieux.

L'âge moyen était de 38,13 avec un sexe ratio (H/F) de 0,93 en faveur des femmes.

Dans notre étude, la séroprévalence obtenue confirme la forte endémicité de l'infection par le VHB au Mali. L'AgHBe a été systématiquement effectué chez tous les porteurs d'AgHBs.

La séroprévalence de l'AgHBs était plus élevée chez le sexe masculin que le sexe féminin, avec respectivement 25,44% et 15,57%, la tranche d'âge **41-50ans**. La profession la plus touchée était les chauffeurs avec 85,71%.

Mots clés : Dépistage, AgHBe, Anticorps HBc totaux, Hôpital de Sikasso.

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'opprobres et méprisé de mes confrères si j'y manque.

Je le jure !