

MINISTERE DE L'EDUCATION NATIONALE

REPUBLIQUE DU MALI

Un Peuple – Un But –

Une Foi

UNIVERSITE DE BAMAKO

FACULTE DE MEDECINE DE PHARMACIE ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE

Année Universitaire 2003-2004

THESE N°/

EVALUATION DE LA CO-INFECTION
VIH/HEPATITES B ET C DANS TROIS
POPULATIONS VUES EN MILIEU

THESE

Présentée et soutenue publiquement le2004 devant la Faculté de
Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie de l'Université de Bamako

Par Monsieur **Alhassane BA** pour obtenir le Grade de Docteur en Pharmacie

(DIPLOME D'ETAT)

JURY

Président du Jury : **Professeur Amadou DIALLO**

Membres : **Docteur Louis PONZIO**
 Docteur Seydou DOUMBIA
 Docteur Soukalo DAO

Directeur de thèse : **Professeur Flabou BOUGODOGO**

INTRODUCTION

Le VIH/SIDA est aujourd'hui une urgence sanitaire majeure à laquelle aucune région du monde n'échappe et qui apporte mort et souffrance à des millions de gens. Mais, tout le monde n'a pas, loin de là, les mêmes possibilités d'accès à la prévention et au traitement[31].

Les virus hépatotropes partagent les mêmes voies de transmission que le VIH, d'où l'existence d'une fréquence élevée de coinfection par le virus de l'hépatite B ou le virus de l'hépatite C chez les patients infectés par le VIH[14,53].

Ainsi, le VIH et le VHB infectent souvent conjointement un même individu, du fait de modes de transmissions analogues[48]. Les progrès dans la connaissance des hépatites virales sont aujourd'hui considérables[35].

En plus du VIH et du VHB, le VHC constitue également un problème majeur de santé publique.

Pour preuve, on estime qu'au cours de l'année 2002, quelque 5 millions de personnes ont contracté l'infection et que près de 3 millions sont mortes du SIDA[31].

En cette même année, selon l'OMS, 42 millions d'individus portent le VIH dans le monde dont 70% en Afrique[30].

L'épidémie mondiale de VIH/SIDA a tué plus de 3 millions de personnes en 2003, et on estime que 5 millions de personnes ont contracté le virus de l'immunodéficience humaine (VIH), cette même année – ce qui porte à 40 millions le nombre de personnes vivant avec le virus dans le monde[32].

Au Mali, la prévalence du VIH est estimée à 1,7% dans la population générale, selon l'EDS III réalisée en 2001[49].

D'après cette même institution, deux milliards de personnes sont infectées par le VHB à travers le monde dont 50% en Afrique et en Asie du sud-est[29].

Pour le VHC, l'OMS estime en 2000 que 31,9 millions d'africains sont porteurs du virus sur les 170 millions de porteurs chroniques de la population mondiale[29].

La prévalence de l'hépatite C est plus élevée dans certains groupes exposés. C'est, en particulier, le cas des sujets infectés par le VIH, chez qui la prévalence de l'infection par le VHC peut atteindre 30% du fait des modes de transmission communs aux deux virus[21].

Bien que la sérologie VIH et les portages des virus des hépatites B et C aient déjà fait l'objet de nombreuses publications en Afrique[20,52], nous ignorons, au Mali, la fréquence de la coinfection par ces virus.

Devant cet état de fait, nous avons entrepris de faire cette étude dans trois populations dans le but d'évaluer la coinfection des hépatites B et C chez les personnes vivant avec le VIH.

I. OBJECTIFS

I.1. Objectif général

Evaluer la coinfection VIH / hépatites B et C chez les personnes vivant avec le VIH.

I.2. Objectifs spécifiques

- 1- Déterminer la séroprévalence de l'hépatite B chez les personnes vivant avec le VIH.
- 2- Déterminer la séroprévalence de l'hépatite C chez les personnes vivant avec le VIH.
- 3- Déterminer la coinfection hépatites B et C chez les personnes vivant avec le VIH.
- 4- Analyser la fréquence de la coinfection en fonction de la population et des caractéristiques socio-démographiques.

II. GENERALITES

1. Virus de l'immunodéficience humaine (VIH)

1.1. Historique[2]

L'histoire du SIDA débute en juin 1981 lorsque le Centre for Disease Control d'Atlanta est informé de l'utilisation de la pentamidine dans les hôpitaux de Los Angeles pour traiter cinq jeunes adultes atteints d'une forme particulière grave de pneumocystose pulmonaire. La survenue d'autres cas semblables chez les homosexuels et des toxicomanes aboutit à individualiser une nouvelle entité clinique, se manifestant par une altération de l'immunité cellulaire et donc appelée Syndrome de l'Immunodéficience Acquis (SIDA). L'épidémiologie a d'emblée suggéré une transmission par un agent pathogène présent dans le sang et les humeurs. L'hypothèse rétrovirale a très rapidement été avancée d'autant qu'il existait plusieurs modèles animaux de déficits immunitaires impliquant cette famille de virus et que le virus HTLV-I (Human T-cell Leukemia/lymphoma virus) venait d'être isolé chez des malades atteints de leucémies et lymphomes T humains.

L'agent causal du SIDA est le virus HIV-1 (pour : Virus de l'Immunodéficience Humaine ; auparavant LAV/HTLV-III) isolé pour la première fois par F Barré-Sinoussi et coll. à l'Institut Pasteur en 1983 et par la suite aux Etats-Unis en 1984. Il est responsable de la pandémie actuelle. Un deuxième virus, appelé HIV-2, a été identifié en 1985 puis isolé en 1986. Ce second virus est présent essentiellement en Afrique de l'Ouest et est également associé au SIDA.

1.2. Données virologiques

1.2.1. Classification et Structure

1.2.1.1. Classification[5]

Le VIH appartient à la famille des *Retroviridae*, à la sous famille des *lentivirinae*, au genre *Lentivirus* et au groupe lentivirus des primates.

1.2.1.2. Structure[21]

En microscopie électronique, VIH-1 et VIH-2, après avoir été libérés par bourgeonnement à la surface des cellules qui les produisent, sont des particules de 90 à 120 nanomètres de diamètre avec une enveloppe hérissée de spicules.

La structure des VIH est similaire ; seuls changent les poids moléculaires des protéines et enzymes constitutives de ce virus. Le génome des VIH, sous forme d'ADN, a une longueur d'environ 9200 nucléotides et est flanqué de chaque côté par des séquences répétitives qui, après retro-transcription, donneront les LTR pour *long terminal repeat*. Les LTR jouent un rôle essentiel dans l'intégration du virus et sa transcription.

Comme tous les rétrovirus, les VIH ont trois gènes de structure, *gag*, *pol*, et *env*, codant respectivement les protéines internes, les trois enzymes virales et les glycoprotéines d'enveloppe. Les VIH ont une organisation génomique complexe du fait de la présence des gènes supplémentaires, régulateurs de la réplication virale, qui s'expriment principalement lors de la multiplication du virus dans la cellule. Ils sont au moins au nombre de six : *tat*, *rev*, *nef*, *vif*, *vpr*, et *vpu*. Leurs fonctions exactes ne sont pas toujours bien connues.

L'homologie globale entre VIH-1 et VIH-2 est de l'ordre de 50%, assez forte au niveau des protéines internes et plus faible au niveau des glycoprotéines d'enveloppe (39%).

1.2.2. Epidémiologie

A la date du 1^{er} avril 1988, 85273 cas de SIDA avaient été officiellement notifiés à l'OMS par 137 pays dont 62536 des cas par 42 pays de la région des Amériques ; 10677 ont été recensés par 27 pays européens ; 10995 des cas par 43 pays africains et 1065 pays d'Asie et d'Océanie. 50 pays avaient notifié plus de 50 cas à l'OMS en avril 1988[35].

1.2.2.1. Répartition géographique

En dépit de la grande croisade mondiale menée depuis plus d'une décennie, l'épidémie du VIH/SIDA persiste et évolue même dangereusement dans certaines parties du monde.

Ainsi, selon les tendances et les projections de l'OMS et l'ONU SIDA, la situation de l'épidémie est apparue encore plus inquiétante.

Les régions du monde qui restent les plus affectées par l'épidémie sont l'Asie du sud et du sud-est, l'Amérique Latine et l'Afrique subsaharienne[27].

Malgré des avancées scientifiques remarquables-élaboration de moyens de diagnostic peu coûteux vers le milieu des années 80, séquençage intégral du génome du VIH moins de 15 ans plus tard et mise au point d'une thérapie antirétrovirale efficace en 1995- le virus a continué à se propager[31].

L'ONU SIDA estime qu'à la fin de 2002, le nombre de personnes vivant avec le VIH/SIDA dans le monde est de 42 millions dont 29 millions en Afrique Subsaharienne[26,34].

Plus de 70% des personnes actuellement infectées par le VIH vivent en Afrique. La majeure partie des décès imputables au SIDA, soit 28 millions pour l'ensemble du monde, en fin 2002, se sont produits sur ce continent[31].

L'ONU SIDA estime qu'en fin 2003, le nombre de personnes vivant avec le VIH/SIDA dans le monde est de 40 millions (34 – 46 millions) ; le nombre de nouveaux cas d'infection à VIH est de 5 millions (4,2 – 5,8) et le nombre de décès dus au SIDA est de 3 millions (2,5 – 3,5)[32].

Le taux de prévalence du VIH, pour l'ensemble du Mali, est de 1,7%, avec, cependant, des variations non négligeables par région. Bamako est la région la plus infectée avec un taux de 2,5%, suivie de Ségou, Kayes et Koulikoro, avec respectivement 2,0% et 1,9%. Les régions de Gao et Tombouctou paraissent les moins touchées avec moins de 1% de prévalence.

Les taux de prévalence du VIH/SIDA du sexe féminin sont nettement plus élevés que ceux du sexe masculin dans la plupart des régions du Mali, montrant ainsi que les femmes sont largement plus exposées au risque de contracter le VIH que les hommes[49].

1.2.2.2. Modes de transmission

Le VIH est présent dans la plupart des liquides biologiques (sang, salive, LCR, sperme, sécrétions vaginales, lait) mais il existe seulement trois modes de transmission : sexuelle, sanguine et mère-enfant[2].

1.2.2.2.1. La voie sexuelle

C'est la voie la plus répandue au monde. Le SIDA est une infection sexuellement transmissible (IST). En Afrique subsaharienne, plus de 90% des cas de SIDA notifié résultent d'une transmission hétérosexuelle. Une proportion croissante des cas signalés en Asie, en Amérique Latine, en Afrique du nord et au moyen Orient est également imputable à cette forme de transmission[28]. Elle peut se faire par des rapports hétéro ou homosexuels avec une personne infectée.

Aux Etats-Unis et en Europe de l'Ouest, la diffusion du VIH s'est effectuée essentiellement par voie sexuelle, en premier lieu dans la communauté homosexuelle masculine[2].

Les facteurs favorisant cette voie sont[33]:

- ❑ La multiplicité des partenaires,
- ❑ L'existence de lésions génitales,
- ❑ Les relations sexuelles occasionnelles non protégées,
- ❑ La pratique de la sodomie,
- ❑ Les relations sexuelles pendant les menstrues,
- ❑ La présence d'une autre IST ou d'antécédents de IST,
- ❑ La pauvreté.

1.2.2.2. La voie sanguine

Elle constitue le second mode de transmission à travers les facteurs suivants :

- ❑ La toxicomanie intraveineuse, infectée,
- ❑ La réutilisation des aiguilles non stérilisées,
- ❑ La transmission dans les lieux de soins,
- ❑ Certaines pratiques thérapeutiques ou rituelles (scarification, excision, circoncision).

La transfusion de sang non dépisté constitue un sujet de préoccupation dans plusieurs pays d'Afrique subsaharienne.

La toxicomanie intraveineuse constitue la principale voie d'entrée du VIH en Europe et aux Etats Unis[33].

Le risque professionnel est moins important (0,3 à 0,7%) que celui de l'hépatite C (3%) ou B (6 à 30%). Moins de 200 cas ont été établis dans le monde.

1.2.2.3. La voie materno-fœtale ou verticale

Le risque de cette voie de transmission est évalué entre 15 et 30% en Europe et aux Etats-Unis et 25 à 40% en Afrique[43].

La transmission mère-enfant du VIH peut se faire en trois périodes : prénatale, périnatale et postnatale. Cette différence d'incidence est en partie due à l'allaitement qui est pratiqué dans la quasi-totalité des cas en Afrique. La transmission transplacentaire a été prouvée dans quelques cas, notamment dès la 15^{ème} semaine de la grossesse. La plupart des enfants infectés sont cependant contaminés en période péri-natale[2].

1.3. Pouvoir pathogène[21]

Cette infection se caractérise par une réplication continue, en particulier dans les tissus lymphoïdes, d'un virus hautement variable, capable de s'adapter aux conditions extérieures. Le mécanisme de destruction des lymphocytes T CD4+ n'est pas parfaitement connu et son origine est sans doute multifactorielle. Peuvent intervenir :

- la lyse directe des cellules infectées par ECP du virus,
- la lyse par les lymphocytes TCD8+ cytotoxiques de lymphocytes CD4+ non infectés mais porteurs passifs à leur surface de la glycoprotéine d'enveloppe virale,
- les phénomènes d'apoptose (mort cellulaire programmée) lors de la stimulation antigénique de cellules ayant été préalablement en contact avec des antigènes VIH,
- l'hyperstimulation cellulaire aboutissant à l'anergie des cellules.

L'histoire naturelle de l'infection à VIH varie selon les individus infectés. Après exposition au virus, la primo-infection s'accompagne d'un pic de réplication virale avec des titres élevés de virus plasmatiques, d'une diminution du nombre de lymphocytes CD4+ et d'une augmentation du nombre de lymphocytes CD8+. La diminution spontanée de la charge virale est associée à la réponse immune spécifique T, indiquant que cette réponse immune cellulaire joue un rôle crucial dans le contrôle de la réplication virale à cette phase de l'infection. Cette primo-infection est suivie d'une phase dite de latence clinique (10 ans environ en l'absence de traitement) pendant laquelle la réplication virale semble stable, ainsi que le nombre de lymphocytes CD4+. Il ne s'agit que d'une stabilité apparente car la réplication virale existe particulièrement dans les tissus lymphoïdes où survient une détérioration anatomique et fonctionnelle. A une phase tardive de l'infection, on observe une augmentation de la charge virale suivie par la chute du nombre de lymphocytes CD4+.

L'utilisation des antirétroviraux permettant de bloquer la réplication du virus de l'immunodéficience humaine (VIH/HIV), a transformé le pronostic du syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA). Une réduction massive de la morbidité et de la mortalité a été observée.

1.4. Diagnostic au laboratoire[13,22]

Il est avant tout un diagnostic sérologique basé sur la recherche d'anticorps anti-VIH.

1.4.1. Diagnostic indirect

1.4.1.1. Tests de dépistage

1.4.1.1.1. Méthode ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay)

On dispose d'une variété d'épreuves ELISA, mais la plupart de celles qui servent à la détection des anticorps anti-VIH sont classées en trois catégories : indirecte, par compétition et par capture d'antigène.

C'est une technique immunoenzymatique utilisée le plus souvent en première intention.

Différents types d'antigènes peuvent être utilisés dans ce test, à savoir : les protéines natives du virus, les protéines de recombinaison génétique, les peptides synthétiques.

Les réactifs de dépistage sont essentiellement mixtes, c'est-à-dire capables de détecter les anticorps anti-VIH1 et anti-VIH2.

Test indirect

Le sérum du patient est ajouté à la phase solide contenant l'antigène, puis on met le conjugué qui réagira avec le complexe antigène - anticorps après incubation à une température et une durée déterminées.

La réaction est faite par un substrat chromogène, la réaction colorée, développée est proportionnelle à la concentration en anticorps anti-VIH.

Test de type compétitif

Les tests ELISA par compétition sont différents dans la mesure où l'anticorps anti-VIH de l'échantillon entre en compétition avec le conjugué (qui est un anticorps dirigé aussi contre le même antigène du VIH) pour occuper les sites réactifs sur l'antigène lié. C'est pourquoi, dans les tests ELISA par compétition, on ajoute en même temps à la phase solide l'échantillon contenant l'anticorps anti-VIH et le conjugué.

La révélation de la réaction antigène – anticorps est faite par un substrat chromogène. Par contre, la réaction colorée développée est inversement proportionnelle à la concentration en anticorps anti-VIH présents.

Test de type « sandwich »

Les anticorps recherchés dans le sérum à analyser sont pris en « sandwich » d'un côté par les antigènes de la phase solide et de l'autre par le conjugué (antigène couplé à une enzyme). Ce test permet la détection simultanée des anticorps pour le VIH1 et le VIH2.

1.4.1.1.2. Tests rapides

Les progrès de la technologie ont permis de mettre au point toute série de tests rapides dont le temps d'exécution varie selon les formes (5 à 30 minutes). Le résultat obtenu par une technique rapide devra être confirmé par une technique ELISA..

1.4.1.2. Tests de confirmation

Etant donné l'existence de résultats parfois faussement positifs, il est en principe obligatoire de pratiquer un test de confirmation avant de délivrer un résultat positif.

Western blot (ou immuno transfert)

C'est l'épreuve la plus largement acceptée des épreuves de confirmation pour le VIH dont l'exécution exige beaucoup de travail au laboratoire et il ne peut pas se prêter efficacement au dépistage. C'est aussi l'épreuve la plus difficile à interpréter.

RIPA (ou Radio Immuno Précipitation Assay)

Elle repose sur le même principe que le WB à la différence qu'il s'agit ici d'une technique de recherche exigeant l'emploi de substrats radioactifs, qui n'est guère utilisée dans les laboratoires cliniques. Les protéines du virus sont marquées au C14 ou au S35. Les antigènes marqués sont en contact avec les sérums à tester, puis on effectue une électrophorèse du précipité antigène – anticorps sur gel de polyacrylamide et on termine par une autoradiographie. C'est une technique sûre, spécifique mais coûteuse et peu accessible.

IFA (test d'immunofluorescence)

C'est une technique d'exécution facile, qui demande moins de temps que le WB. Des cellules lymphocytaires infectées par le virus sont déposées sur des lames de microscope, des cellules identiques non infectées servent de témoins et permettent d'éliminer les fixations non spécifiques. Elle est peu onéreuse.

1.4.2. Diagnostic direct

1.4.2.1. Cultures virales

Des cellules mono-nucléées du sang périphérique prélevé sur anticoagulant sont mises en culture pour les séparer des autres cellules sanguines par centrifugation.

Après lavage, elles sont mises en suspension dans un milieu de culture riche contenant l'interleukine 2 indispensable à la croissance des lymphocytes et des substances favorisant l'infection virale telle que le sérum anti-interféron.

La stimulation des cellules se fait avec la phytohémagglutinine (PHA). Les cultures cellulaires sont maintenues pendant quatre à six semaines. La mise en évidence du virus repose sur l'étude du surnageant de la culture dans lequel on détecte l'antigène viral, l'activité de la transcriptase reverse.

1.4.2.2. Détection des acides nucléiques viraux

Les deux techniques les plus couramment utilisées pour cette détection sont :

- ❑ L'hybridation qui utilise l'ARN du VIH radio marqué ou marqué par une enzyme pour sonder les cellules mononucléées à la recherche d'ADN viral,
- ❑ La technique d'amplification des séquences appelées PCR (polymerase chain reaction) : elle se fait à partir de l'ADN. On recherche directement la présence de l'ADN proviral intégré dans l'ADN cellulaire ou la présence des ARN génomiques ou messagers, en faisant précéder l'amplification d'une étape de transcriptase inverse qui transforme l'ARN en ADN (RT-PCR).

1.4.2.3. Détection des antigènes du VIH

Elle se fait par une méthode ELISA qui consiste en la recherche de l'antigène p24/p25 avant l'apparition des anticorps. Les anticorps d'un sérum polyclonal anti-VIH fixés au fond des puits d'une microplaque ou sur des billes de polystyrène sont mis en présence d'un sérum humain à tester, et se lient à l'antigène viral éventuellement présent.

Après un lavage répété, la présence de l'antigène est révélée par un conjugué anti-VIH de lapin ou de chèvre avec un chromogène dont l'attaque se traduit par l'apparition d'une coloration plus ou moins intense.

2. Virus de l'hépatite B (VHB)

2.1. Historique[21]

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

En 1975, l'équipe de P Maupas, de Tours, publie les premiers résultats de vaccination contre le VHB utilisant comme source vaccinale l'Ag Australia (désigné sous le sigle AgHBs) purifié à partir de plasma de porteurs chroniques.

En 1986, le premier vaccin mondial obtenu par génie génétique et commercialisé est un vaccin contre l'hépatite B.

2.2. Données virologiques

2.2.1. Classification et Structure[11]

2.2.1.1. Classification

Il appartient au groupe VII : virus à ADN avec reverse transcription.

Famille : *Hepadnaviridae*

Genre : *Orthohépadnavirus*

Espèce type : virus hépatite B (VHB)

2.2.1.2. Structure

Il y a 3 types de particules virales :

- sphérules de 20 nm de diamètre
- batônnets de taille variable (jusqu'à 200 nm.)
- particule de Dane = virion complet

Le virion a une enveloppe portant des Ag de surface, Ag HBs. La capside de symétrie icosaédrique porte des Ag de capside (Ag HBc). L'ADN est double brin partiellement simple et il est circularisé. Sa taille est de 3,2 Kb ($M_r=2.10^6$). Il y a un recouvrement des 3 phases de lecture.

Une protéine C se dispose sur la capside en dimère.

ORFI a un cadre de lecture faisant presque tout le génome et on distingue 3 cadres de lecture.

Il existe 4 cadres de lecture :

- ORF1 : polymérase
- ORF2 : protéine S et AgHBs (antigénicité HBs)
- ORF3 : protéine C et AgHBc et AgHBe
- ORF4 : protéine X.

Il existe 6 types génomiques différents de A à F

- génotype A prédominant en Europe de l'ouest
- génotypes B et C prédominant en Asie
- génotypes D et E prédominant dans le sud du bassin méditerranéen.

2.2.2. Epidémiologie

2.2.2.1. Répartition géographique

Diffusément répartie au niveau mondial, l'infection chronique par le VHB toucherait, selon l'OMS, environ 400 millions de personnes. L'hépatite B est donc répandue dans le monde entier, elle est considérée par l'OMS comme une des dix plus meurtrières de toutes les maladies infectieuses. La mortalité attribuable aux infections par le VHB est de 1 à 2 millions d'individus, chaque année. Cette mortalité est principalement liée aux complications de l'hépatite chronique, à savoir la cirrhose et le cancer primitif de foie[35].

L'OMS distingue, à la surface du globe, trois situations épidémiologiques évaluées d'après le taux de portage chronique de l'antigène HBs dans la population adulte :

- zone de faible endémie (< 2 % d'Ag HBs) : Australie, Amérique du Nord, Europe de l'Ouest,
- zone de moyenne endémie (2 % à 7 % d'Ag HBs) : Europe de l'Est, Union Soviétique, pays méditerranéens et Proche-Orient,
- zone de haute endémie (8 % à 20 % d'Ag HBs) : Afrique sub-saharienne, Asie du Sud-Est, Chine méridionale.

En général, l'incidence de la maladie est inversement proportionnelle au niveau socio-économique.

Il existe en Europe un gradient Nord-Sud, les pays nordiques étant moins touchés que le pourtour méditerranéen.

On considère qu'il y a sur la planète 200 à 350 millions de porteurs chroniques.

En France, on considère qu'il y a environ 100000 cas d'hépatite B par an, que 5 % à 10 % de la population rencontre le virus au cours de sa vie.

La séroprévalence de l'AgHBs au Mali est de 14,7% aussi bien en milieu urbain qu'en rural [6].

2.2.2.2. Modes de transmission

Le virus de l'hépatite B se transmet directement ou indirectement par les liquides biologiques provenant d'individus infectés. Ces liquides sont : le sang, les sécrétions sexuelles (sperme, sécrétions vaginales)[46].

Selon le mode d'exposition, la salive est suspectée d'être une voie de transmission de ce virus[17].

Les larmes, les urines, le lait maternel, les selles bien que contenant de faibles quantités de virus ne transmettent pas le virus. La contagiosité de ces liquides n'est pas démontrée car la charge virale y est 100 à 1000 fois plus faible que dans le sang.

2.2.2.2.1. La voie sanguine

Cette voie se retrouve dans tous les pays quel que soient leurs taux d'endémicité[17]. La transmission se fait par le sang ou les dérivés sanguins, surtout en pratique médicale. Elle est surtout représentée par la toxicomanie intraveineuse, mais aussi la transfusion dont le risque a diminué depuis les mesures d'éviction des donneurs de sang évalué à 1/100.000.

Il y avait autant de contamination que d'unités de sang transfusées ou de nombre de donneurs utilisés pour préparer une unité de produits dérivés[7].

Ce risque est de 0,7 à 4%[37].

Le tatouage, le percement des oreilles et l'acupuncture en l'absence de précaution sont également des moyens de transmission par le sang. Une principale voie en développement est la toxicomanie par voie veineuse à travers le partage des accessoires d'injection, habituellement contaminés, des fois, par plusieurs virus (Exemples : le virus du SIDA, le VHC).

La prévalence chez les toxicomanes est de 80%.

2.2.2.2.2. La voie sexuelle[46]

Bien que démontrée, elle se transmet surtout dans les pays de faible endémicité. Le VHB est mis en évidence dans le sperme et les sécrétions vaginales des sujets atteints d'une hépatite aiguë B et les porteurs chroniques symptomatiques ou asymptomatiques, d'où la transmission du VHB lors des rapports sexuels. C'est donc une IST (infection sexuellement transmissible).

Le nombre de partenaires, le nombre d'années d'activité sexuelle et l'existence d'antécédents d'autres IST sont des facteurs qui augmentent le risque chez les homosexuels et les prostituées qui constituent des sources de propagation de la maladie.

La prévalence chez les partenaires sexuels d'individus infectés est estimée à 16 à 40%.

La transmission hétérosexuelle a été démontrée comme étant à l'origine de plus de 40% des cas de cette infection chez les adultes aux USA par des études récentes.

2.2.2.2.3. La transmission mère-enfant ou transmission verticale

Les enfants nés de mères antigène – HBs positifs sont exposés à un risque particulier de contamination par voie sanguine car le virus de l'hépatite B franchit la barrière placentaire du fait de sa très petite taille. Ce mode prédomine en Asie.

Ces nouveaux - nés sont particulièrement exposés à un risque de portage chronique, une fois infectés. Ils constituent un réservoir de virus.

Mais 95% des enfants sont contaminés au moment de la délivrance, par contact direct avec le sang et les sécrétions de la filière génitale maternelle, 5% semblent déjà avoir été contaminés *in utero*.

La transmission se fait soit par voie placentaire (communication entre les circulations fœtale et maternelle), soit au décours d'une excoriation cutanée, par pénétration du virus à travers des muqueuses, par injection de sang maternel au cours d'une césarienne[47].

Les contacts étroits entre la mère et l'enfant peuvent faire intervenir d'autres modes de contamination : la salive par exemple.

2.2.2.2.4. Autres voies de contamination

- La transmission intra – familiale ou horizontale

Cette voie est fréquente chez les jeunes enfants et les adolescents, mais peut exister à tout âge. Elle est fréquente dans la vie quotidienne d'une famille. La moindre excoriation cutanée ou muqueuse libérant du sang peut assurer la contamination du virus B soit directement par contact, soit par une brosse à dent, un rasoir, les linges de toilette (0,0001 ml de plasma peut assurer la transmission).

Des objets usuels contaminés par la salive, la sueur ou les larmes contenant du sang peuvent également transmettre le virus[7].

- La transmission non prouvée

La transmission par des insectes hématophages tels que les moustiques et les punaises est incertaine, malgré l'existence de l'antigène HBs chez ces derniers[24]. Certains helminthes (anguillules, ankylostomes, schistosomes) ont été soupçonnés de favoriser

l'infestation par le VHB par les microlésions qu'ils provoquent lors de leur pénétration transcutanée dans l'organisme. Cependant, là aussi, aucune preuve n'a été apportée[17].

2.3. Pouvoir pathogène[21]

Le virus étant peu cytolitique, c'est l'intensité variable du conflit entre ce virus et les défenses immunitaires qui détermine la gravité de l'infection et le polymorphisme de l'hépatite B. Les défenses immunitaires mettent en jeu deux mécanismes : les lymphocytes T qui attaquent et détruisent des cellules malades, les lymphocytes B qui synthétisent les anticorps spécifiques neutralisant les virus circulants. Après la contamination, existe une période d'incubation de 30 à 120 jours (en moyenne 10 semaines) inconstamment marquée de manifestations pseudo-grippales (fébricule ou fièvre, frissons, céphalées, myalgies, douleurs articulaires) et, dans la moitié des cas, de troubles digestifs.

Chez 20 à 30% des patients, la phase d'état est symptomatique, avec un ictère d'intensité variable, des urines peu abondantes et foncées, des selles normales ou décolorées, un prurit inconstant. Le foie est de volume normal ou légèrement augmenté. L'ictère décroît progressivement, durant en moyenne deux à six semaines. Fait important pour le diagnostic d'hépatite aiguë, il existe une augmentation marquée des transaminases sériques.

La symptomatologie est directement liée à l'âge et l'infection est le plus souvent asymptomatique chez le jeune enfant. On distingue des formes anictériques (70% à 80%) et, à l'opposé, des formes avec insuffisance hépatocellulaire grave : hépatites fulminantes ou subfulminantes (0,1% des cas), avec nécrose hépatique massive s'accompagnant d'un ictère bilirubine conjuguée, d'une atrophie hépatique avec hypertransaminasémie très élevée et syndrome hémorragique dû, en partie, au défaut de synthèse des facteurs de

coagulation fabriqués par le foie, en partie à des phénomènes de coagulation intravasculaire. La mortalité globale est de l'ordre de 70% en l'absence de greffe hépatique. Le VHB est à l'origine de 70% des hépatites fulminantes virales.

L'hépatite chronique se développe au décours d'une hépatite aiguë symptomatique ou asymptomatique. Elle se définit par la persistance des anomalies cliniques, biochimiques et/ou du virus six mois après le début d'une hépatite aiguë. Le risque d'évolution vers la chronicité dépend de l'âge du patient et de son système immunitaire. Le taux d'évolution vers la chronicité de 5-10%, souvent cité, concerne l'adulte immunocompétent ; ailleurs, il est beaucoup plus élevé, notamment chez les nouveau-nés infectés (90%) ou chez les sujets immunodéprimés ou souffrants de maladies débilitantes. Après quelques mois, les trois quarts de ces formes chroniques se transforment spontanément en hépatites chroniques persistantes. En revanche, un quart évoluent en hépatites chroniques actives s'accompagnant d'une destruction massive des cellules. Progressivement, les cellules détruites sont remplacées par du tissu cicatriciel et l'hépatite évolue ainsi vers la cirrhose. Il n'est pas rare que la maladie ne soit découverte qu'à ce stade, lors d'une complication de la cirrhose (ascite, ictère ou hémorragie digestive). A un stade tardif, on trouve des signes cliniques d'insuffisance hépatocellulaire ou d'hypertension portale. Le foie ne remplit plus son rôle de synthèse et d'épuration, ce qui aboutit à la mort du malade. Par ailleurs, à long terme, certaines cellules se transforment et initient un cancer primitif du foie (CPF).

Quatre molécules ont obtenu une autorisation de mise sur le marché pour toutes les hépatites B : interféron alpha, vidarabine (adénine arabinoside ou ara-A), lamivudine (didésoxy-thiacytidine ou 3TC) et adéfovir (PMEA).

2.4. Diagnostic au laboratoire

2.4.1. Diagnostic non spécifique

Le foie est un organe essentiel très important car il assure de nombreuses fonctions biologiques notamment :

- La fonction biliaire,
- La fonction métabolique (glucides, lipides, protides),
- La coagulation,
- La fonction enzymatique,
- L'épuration (hépatique et éventuellement la sécrétion biliaire).

Les lésions anatomiques, plus particulièrement celles résultant d'une atteinte inflammatoire d'étiologie virale, peuvent affecter le foie et entraîner diverses perturbations.

La mise en évidence de ces perturbations peut se faire par des tests histologiques dont certains sont spécifiques de syndrome histo-biologique et d'autres permettant une exploration globale d'une ou de plusieurs fonctions hépatiques.

Cependant, cliniquement, il est important de limiter les épreuves à celles qui sont vraiment indispensables.

2.4.1.1. Transaminases sériques

Ce sont des enzymes ayant pour coenzyme le phosphate de pyridoxal. Elles assurent le transfert du radical NH_2 d'un acide aminé sur un acide alpha cétonique. Les transaminases permettent ainsi au cours de la dégradation oxydative des acides aminés, le transfert du radical aminé vers l'uréogénèse.

Leur élévation, même mineure, traduit une cytolyse plus ou moins importante. Cette élévation est un signe présomptif d'une hépatite virale.

La TGP (ALAT) qui est essentiellement cytoplasmique apparaît plus vite, en plus grande quantité et plus spécifique du foie.

La TGO (ASAT), son taux augmente moins que celui de la TGP, en cas de lésions légères, cependant devient plus, élevé en cas de lésions sévères atteignant les mitochondries.

La TGP est spécifiquement présente dans le foie, son augmentation est le signe d'une cytolyse tandis que la TGO se trouve dans d'autres organes (cœur, rein, muscles...) et est moins spécifique du foie.

La cinétique du taux des transaminases permet d'apprécier l'évolution de la maladie.

- Hépatite aiguë : une nette élévation des transaminases avant l'apparition de l'ictère. Ce qui constitue le seul signe des hépatites anictériques. Cette élévation est très importante (TGO = 400 M UI / ml, N = 5 à 25 et TGP = 600 M UI / ml, N = 5 à 25) et permet de distinguer l'évolution vers la guérison ou la chronicité.
- Hépatite chronique : une élévation des transaminases est un signe constant, mais avec des valeurs inférieures significatives (40 à 60 M UI / ml).

2.4.1.2. Autres tests sanguins

D'autres tests de cytolyse hépatique (OCT, LDH) et des tests d'insuffisance de synthèse hépatique (estérases, protides totaux, sérum albumine, cholestérol estérifié, fibrinogène et complexe prothrombinique) peuvent compléter l'exploration biochimique des hépatites virales. On note également une inversion de la numération formule sanguine (NFS) et une accélération de la vitesse de sédimentation (VS).

2.4.1.3. Ponction biopsique du foie

Histologiquement, l'existence d'une réaction inflammatoire généralisée associée à un degré variable de nécrose hépatocytaire traduit l'atteinte hépatique.

On définit deux formes d'hépatites à savoir : l'hépatite aiguë et l'hépatite chronique.

Tableau 1 : Classification histologique des hépatites[38]

Aspects histologiques Classes d'hépatites	Infiltration inflammatoire portale	Nécrose	Fibrose
Hépatite aiguë	+	+	-
Hépatite chronique persistante	++	±	±
Hépatite chronique active de grade A	+++	+	+
Hépatite chronique active de grade B	+++	++	+

2.4.2. Diagnostic spécifique

2.4.2.1. Détection du virus et des séroconstituants

2.4.2.1.1. Marqueurs du virus de l'hépatite B

On appelle marqueur, tout élément qui signe la présence ou le passage du virus dans l'organisme.

- L'antigène HBs, qui est le 1^{er} marqueur viral à être mis en évidence, peut être présent dans le sérum et le cytoplasme de l'hépatocyte.

- L'antigène HBc, lié à la nucléocapside, est présent seulement dans l'hépatocyte, mais jamais dans le sérum.
- L'antigène Hbe, lié à la nucléocapside comme l'antigène HBc dont il représente une forme dégradée, n'est décelé que dans le sérum.
- Les anticorps anti-HBc, anti-HBe, anti-HBs et anti-ADN polymérase sont retrouvés dans le sérum. Il existe également les anticorps IgM anti-HBc et les anticorps IgG anti-HBc.
- L'ADN polymérase est décelé dans l'hépatocyte et le sérum.
- L'ADN viral est libre dans le sérum ou dans l'hépatocyte où il peut être intégré à l'ADN chromosomique.

2.4.2.1.2. Méthodes de détection

- Tests de première génération :
 - Immunodiffusion en gel (ID)
- Tests de deuxième génération :
 - EID (électroimmunodiffusion) ou électrophorèse
 - Agglutination passive inversée (API) de particules de latex
 - Rhéophorèse
 - RFC (réaction de fixation du complément)
- Tests de troisième génération :
 - Hémagglutination passive inversée (HAPI)
 - RIA (Radio Immuno Assay)
 - ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) : il faut noter ici que dans le cas de la recherche d'antigène dans le sérum, on utilise un ELISA de type « sandwich » ou un anticorps est fixé au support et prend en « sandwich »

l'antigène entre lui et un autre anticorps accroché à une enzyme de révélation.

- Synthèse d'ADN radioactif : l'activité de l'ADN polymérase est évaluée par la capacité du sérum à induire la synthèse d'un ADN radioactif à partir du substrat. Par contre les anticorps anti ADN polymérase sont détectés par l'inhibition de cette synthèse.
- Hybridation moléculaire in situ et sur membrane.

2.4.2.1.3. Interprétation des résultats

Les différentes situations sériques de l'infection par le VHB sont résumées dans le tableau suivant :

Tableau 2 : Sérologie de l'hépatite B[38]

Marqueurs	Significations
Ag HBs+, anti HBe+, anti HBs-	Hépatite aiguë B ou porteur chronique
Ag HBs-, anti HBe+, anti HBs-	Hépatite virale aiguë en voie de guérison avant l'apparition d'anticorps anti HBs ou porteur chronique du virus B (taux faible) ou très rarement infection passée à virus B
Ag HBs-, anti HBe+, anti HBs+	Contact antérieur avec le virus B et immunisation naturelle
Ag HBs-, anti HBe-, anti HBs+	Immunisation par vaccination, contact très ancien avec le virus B (rare)
Ag Hbe+, anti HBe-, AND+	Réplication virale B active
Ag Hbe-, anti HBe+, AND-	Absence de réplication virale B
Ag HBe-, anti HBe+, ADN+	Infection probable par un virus B mutant
Ag : Antigène, Anti : Anticorps, ADN : ADN du virus, - : Absent, + : Présent	

Plusieurs cas cliniques peuvent être envisagés selon les résultats.

- Hépatite B aiguë : apparition de l'antigène HBs 2 à 6 semaines avant le début clinique de la maladie et persistance 1 à 4 semaines après le début de l'ictère. Sa disparition signifie la guérison tandis que sa persistance traduit une évolution chronique de l'hépatite. Chez près de 80% des malades 1 à 3 mois après la disparition de l'antigène HBs on retrouve l'anticorps anti HBs correspondant aux immunoglobulines G. Actuellement, les anticorps IgM spécifiques sont très précocement détectables avant même les signes cliniques. L'anticorps anti HBc se détecte tôt, dès l'élévation des transaminases. Son titre décroît pendant la convalescence, alors que sa persistance traduit la poursuite de l'infection avec parfois l'apparition des IgM avant les signes cliniques. L'antigène HBe présent chez moins de 30% des malades disparaît rapidement, alors que les anticorps anti HBe s'élèvent et indiquent la guérison de la maladie. Quatre semaine après, la persistance de l'antigène HBe conduit à la chronicité.
- Hépatite chronique : définie par la présence au-delà de 6 mois d'anomalies cliniques et biologiques des fonctions hépatiques avec persistance de l'antigène HBs. Les anticorps anti-HBc et anti-HBe persistent également. L'hépatite chronique persistante et l'hépatite chronique passive se distinguent chez ces malades par la biopsie hépatique.

Dans les premières formes, l'évolution favorable commence lorsque les antigènes HBs et HBe disparaissent avec diminution du taux des anticorps anti-HBc. Ces derniers apparaissent 2 à 3 mois plus tard.

L'anticorps anti-HBe s'élève après la disparition de l'antigène correspondant. A l'inverse, la persistance des antigènes HBs, HBe, de l'anticorps anti-HBc témoigne de la poursuite de l'infection et de l'agressivité de l'hépatite.

2.4.2.2. Remarque sur la culture du VHB

La culture a été faite par transfection, d'une lignée différenciée de cellules tumorales du foie (Hep G2 cello) à l'aide de clans de DNA circulaire du VHB. Elle a permis d'obtenir différentes particules virales[42].

3. Virus de l'hépatite C (VHC)

3.1. Historique[21]

L'identification du virus de l'hépatite A et du virus de l'hépatite B au début des années 1970 a permis d'individualiser des hépatites d'origine virale vraisemblable, à transmission parentérale (post-transfusionnelles ou cryptogénétiques), non associées à la présence de marqueurs d'infection par ces deux virus, baptisées « hépatites ni A - ni B à transmission parentérale ». Ce n'est qu'en 1989 que l'agent responsable de ces hépatites a été identifié par l'équipe de Michael Houghton (Chiron Corporation, Emeryville, Californie) et baptisé virus de l'hépatite C.

L'identification du VHC marque un tournant dans l'histoire de la virologie, puisque c'est le premier virus découvert grâce à l'utilisation exclusive de techniques de biologie moléculaire, en l'absence de tout système de culture cellulaire et de visualisation préalable en microscopie électronique.

3.2. Données virologiques

3.2.1. Classification et Structure

3.2.1.1. Classification[12,19]

Le virus de l'hépatite C appartient à la famille des *Flaviviridae*, au genre *Hepacivirus*.

3.2.1.2. Structure

Les particules virales ont un diamètre de 55 à 65 nm. Elles sont constituées, de l'extérieur vers l'intérieur, de trois structures :

- une enveloppe lipidique dérivée par bourgeonnement des membranes du réticulum endoplasmique, au sein de la quelle sont ancrées les deux glycoprotéines d'enveloppes virales E1 et E2, associées deux à deux,
- une capsidie protéique formée par la polymérisation de la protéine de capsidie C,
- le génome viral, constitué d'une molécule d'ARN à simple brin linéaire, de polarité positive, d'environ 9600 pb. Il est constitué de trois régions, de 5' en 3'.

3.2.2. Epidémiologie

3.2.2.1. Répartition géographique [21]

On estime qu'environ 180 millions de personnes sont infectées par le virus de l'hépatite C dans le monde.

On distingue schématiquement trois zones géographiques :

- Les régions d'endémicité modérée, où la prévalence de l'infection dans la population générale est moins de 1 %. C'est le cas de l'Europe du Nord, de l'Australie.
- Les régions d'endémicité moyenne, comme l'Europe de l'Ouest et les Etats-Unis où la prévalence de l'infection dans la population générale est de l'ordre de 1 %.

On estime qu'en France 1 % de la population, soit 500 000 à 600 000 personnes, est infectée. La prévalence est plus élevée dans certains groupes exposés. C'est en particulier le cas des sujets infectés par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH), chez qui la prévalence de l'infection par le VHC peut atteindre 30 %, du fait des modes de transmission communs aux deux virus.

- Les régions de forte endémicité où la prévalence de l'infection dans la population générale est de 2 % ou plus. C'est le cas de l'Europe du Sud et du Japon (de l'ordre de 2 %), de l'Afrique noire et de l'Amérique du Sud (2 à 5 %). Dans certaines régions de l'Egypte, la prévalence atteint 30 à 40 % de la population. Elle résulte de la contamination

de nombreux individus par des injections intramusculaires réalisées avec du matériel mal stérilisé lors de campagnes massives de traitement de la bilharziose. La prévalence exacte de l'infection par le VHC reste inconnue et cela dans de très nombreux pays en voie de développement.

En France, l'incidence de l'infection est aujourd'hui estimée à 5 000 à 6 000 nouveaux cas par an. Il existe encore des régions du monde où les dons de sang ne sont pas testés pour la présence d'anticorps anti-VHC et où l'incidence de l'hépatite C reste très élevée.

3.2.2.2. Modes de transmission[2]

3.2.2.2.1. Transmission parentérale

Dans 60 à 70% des cas, une transmission parentérale du VHC, résultant d'un contact direct avec du sang contenant le virus, peut être identifiée. Dans ce cadre, les deux principaux modes de transmission sont : la transfusion sanguine (produits sanguins et dérivés) et la toxicomanie intraveineuse. Le VHC peut être transmis par le biais d'échanges de seringues, mais aussi de matériel de préparation des drogues, entre toxicomanes intraveineux.

Le risque d'être contaminé par le VHC après avoir reçu des produits sanguins varie en fonction de plusieurs paramètres : le nombre d'unités transfusées, la date de transfusion par rapport à l'introduction des différents marqueurs utilisés pour l'éviction des dons de sang à risque, le type de produit transfusé, le statut des donneurs (rétribués ou volontaires, réguliers ou occasionnels) qui conditionnent leur contagiosité. Les culots globulaires, les concentrés cellulaires de globules blancs et de plaquettes sont susceptibles de transmettre l'infection, ainsi que les produits dérivés du sang, tels que plasma frais congelé ou fractions coagulantes. La transmission par des lots contaminés d'immunoglobulines administrées par voie intraveineuse à de fortes doses a été rapportée.

Les mesures de prévention successivement introduites en transfusion ont permis de réduire progressivement le risque de transmission du virus : élimination des unités de sang ayant un taux d'alanine aminotransférase (ALAT) supérieur à 2 fois la normale

(avril 1988), puis des unités de sang contenant des anticorps anti-HBc (octobre 1988), des anticorps anti-VHC par les tests de première génération (mars 1990), puis de deuxième génération (mars 1991) ; enfin, éviction en 1992 des donneurs dont le taux d'ALAT est strictement supérieur à la normale. Ces mesures ont permis, en France comme à l'étranger, de réduire très significativement le risque transfusionnel de contamination par le VHC. Ce risque, évalué à environ 6% au début des années 80, est aujourd'hui inférieur à 0.01%. **Les patients transfusés, avant 1991, sont donc ceux qui sont les plus exposés au risque.**

3.2.2.2.2. Transmission sexuelle

Des modes de transmission mineurs ont été identifiés. La transmission sexuelle du VHC est possible, mais son incidence serait très faible. Dans plusieurs études, la prévalence des marqueurs du VHC était plus élevée chez les homosexuels que dans la population générale, mais le rôle de facteurs de risque associés, tels que la toxicomanie intraveineuse, ne pouvait être écarté. En fait, les marqueurs d'infection par le VHC sont trouvés chez seulement 1 à 6% des partenaires sexuels réguliers de sujets infectés. Même si cette prévalence reste supérieure à celle observée dans la population générale, elle est relativement faible.

3.2.2.2.3. Transmission « *intra-familiale* »

La transmission « intra-familiale » du VHC, c'est-à-dire interindividuelle directe entre des sujets vivant sous le même toit et n'ayant pas de rapports sexuels, a été évoquée. Les données de la littérature à ce sujet sont contradictoires. L'hypothèse la plus probable pouvant expliquer ce type de transmission reste la transmission par le sang, résultant de l'utilisation commune aux membres d'une famille d'objets personnels tels que ciseaux, peignes, rasoirs, voire brosses à dents.

3.2.2.2.4. Transmission mère-enfant

La transmission mère-enfant du VHC a, quant à elle, été bien démontrée. Chez les mères également infectées par le VIH, la transmission du VHC est fréquente, de l'ordre de 20% et elle semble indépendante de celle du VIH. En revanche, chez les femmes non infectées par le VIH, le risque de transmission mère-enfant du VHC apparaît faible, de l'ordre de 3%. Le risque de transmission est d'autant plus élevé que la charge virale, c'est-à-dire la concentration de particules virales circulantes, est élevée chez la mère. Seules les femmes ayant les plus fortes charges virales transmettent le virus à leur enfant. Ceci pourrait expliquer le plus fort taux de transmission du VHC de la mère à l'enfant chez les femmes co-infectées par le VIH, qui peut être à l'origine d'une augmentation de la réplication virale C chez les mères. Il s'agirait d'une transmission périnatale (soit au cours de l'accouchement, soit dans la période post-natale) plutôt qu'une contamination transplacentaire in utero. Les résultats des études visant à mettre en évidence l'ARN du VHC dans le colostrum ou à le lait maternel, sont contradictoires. La possibilité d'érosions cutanées au cours de l'allaitement doit inciter à la prudence.

3.2.2.2.5. Infections « sporadiques »

Enfin, chez 30 à 40% des malades ayant une infection par le VHC, aucun facteur de risque d'infection n'est trouvé. La possibilité d'une transmission par les soins dentaires, l'acupuncture, le rasage chez un barbier dans certains pays, les tatouages, le percement d'oreilles ou diverses manœuvres instrumentales souvent d'origine nosocomiale (cathétérismes, endoscopies, biopsies per-endoscopiques, chirurgie ...) a été évoquée. En fait, d'après les études moléculaires, dans un grand nombre des cas où aucun facteur de risque n'est trouvé, une transfusion de produits sanguins ignorée ou oubliée ou un contact avec du sang contaminé en dehors de tout contexte de toxicomanie (transmission nosocomiale, geste invasif, tatouage, acupuncture...) pourraient être impliqués.

3.3. Pouvoir pathogène

- Hépatite aiguë[21]

Après une incubation de 4 à 12 semaines, l'infection par le VHC est à l'origine d'une hépatite aiguë caractérisée par une élévation de l'activité sérique des aminotransférases (en particulier l'alanine aminotransférase, ALAT ou SGPT). Cette élévation est habituellement modérée (moins de 10 fois la limite supérieure de la normale) et transitoire. L'hépatite aiguë C est asymptomatique dans 90 % des cas.

Ailleurs, elle s'accompagne d'une asthénie ou de symptômes peu spécifiques, de sorte qu'elle passe souvent inaperçue. La forme ictérique typique est très rare. Le VHC ne semble pas capable d'induire d'hépatites fulminantes en l'absence de coinfection par un autre virus hépatotrope. Il favorise leur survenue en cas de coinfection avec le virus de l'hépatite B ou celui de l'hépatite A.. L'hépatite aiguë C guérit spontanément dans environ 20 % des cas chez l'adulte (50 % chez l'enfant contaminé à la naissance) sans conférer une immunité protectrice complète.

- Hépatites fulminantes[1]

La responsabilité du VHC dans les hépatites fulminantes est très difficile à apprécier du fait de la mortalité de cette affection, de l'apparition retardée des Ac anti C 100-3 et donc de l'impossibilité de mettre en évidence une séroconversion. Seule la détection de séquences virales par PCR pourrait en faire la preuve.

- Hépatites chroniques[1]

Les hépatites chroniques NANB sont définies par l'existence d'une élévation prolongée (supérieure à 6 mois) des alanine aminotransférases (ALAT) à plus de 2 fois les valeurs normales, après exclusion des autres causes de cytolyse chronique. Leur incidence varie de 30 à 70% pour les hépatites post-transfusionnelles, et de 10 à 40% pour les formes sporadiques. Les signes cliniques sont mineurs et réduits le plus souvent à une asthénie. La ponction biopsie hépatique est nécessaire pour confirmer le diagnostic et apprécier la

sévérité de l'atteinte histologique. La prévalence des Ac anti C 100-3 dans les hépatites chroniques NANB est d'environ 70 à 80%. Elle paraît légèrement plus élevée (environ 80%) au cours des hépatites non A non B sporadiques (70%). Le taux des Ac anti VHC peut décroître au cours de l'évolution de la maladie notamment dans les formes évoluant vers la guérison avec normalisation des transaminases.

Le traitement de l'hépatite chronique C est aujourd'hui fondé sur la combinaison interféron alpha-ribavirine.

L'administration d'interféron alpha au cours d'une hépatite aiguë C permet de réduire considérablement le risque d'évolution vers la chronicité.

3.4. Diagnostic au laboratoire[23,41]

Le diagnostic des infections par le VHC comme celui de toute infection virale repose sur deux types de test. Les tests indirects qui mettent en évidence les anticorps dirigés spécifiquement contre le virus (test sérologique) et les tests directs qui mettent en évidence les constituants de la particule virale. (Ex : PCR pour le VHC).

3.4.1. Diagnostic indirect

Il repose sur des tests qui utilisent des antigènes viraux permettant la détection spécifique d'anticorps anti-VHC. Deux types de tests sont actuellement utilisés en première intention et les tests de confirmation ou de validation.

3.4.1.1. Tests de dépistage

Il s'agit habituellement des tests ELISA (Enzyme – Linked – Immunosorbent – Assay) qui sont les meilleurs pour le dépistage. Ils sont d'exécution facile, peu onéreux, fiables chez la plupart des malades immunocompétents, moins sensibles chez les immunodéprimés et les dialysés.

Les protéines recombinantes ou les peptides de synthèse viraux sont fixés soit sur des microplaques, soit sur des billes de polystyrène. Les anticorps sont mis en évidence par immunocapture, suivis d'une révélation enzymatique colorimétrique. Le premier test commercialisé, en 1985, utilisait la protéine recombinante C₁₀₀₋₃ comme antigène. Cette protéine était codée par la région NS4 du génome viral de la souche prototype. Aujourd'hui, les tests sérologiques de dépistage commercialisés sont des tests de 3^{ème} génération. Ils incluent des protéines recombinantes et/ou des peptides synthétiques codés à la fois par les régions structurales (NS3, NS4, NS5).

3.4.1.2. Tests de validation

Ces tests utilisent une technique d'immunoblotting. Les antigènes viraux, souvent identiques ou voisins des antigènes utilisés dans le test de détection correspondant, sont immobilisés sur des bandelettes de nitrocellulose en bande parallèles. Les bandelettes de nitrocellulose sont incubées avec les sérums ou plasma testé et des contrôles positifs ou négatifs. Si des anticorps anti-VHC sont réellement présents, ils réagissent avec les antigènes fixés sur des bandelettes. La réaction est ensuite révélée par immunoenzymologie et l'intensité de la bande est proportionnelle à la quantité d'anticorps spécifiques fixés à l'antigène recombinant.

3.4.2. Diagnostic direct : La RT PCR

L'importance des hépatopathies non A non B dans la pathologie virale hépatique et notamment post-transfusionnelle a fortement stimulé la recherche des tests de diagnostic sérologique S et moléculaire S afin de pouvoir les identifier et mieux comprendre leur évolution[23]. Il a fallu attendre 1989 pour que ces hépatites non A non B soient enfin repérables grâce à la découverte du VHC par biologie moléculaire. L'amplification génomique par PCR introduite en 1985 par les chercheurs de la firme CETUS , permettant d'obtenir des millions de copies d'ADN spécifiques constitue une véritable révolution dans le diagnostic. Pour le virus de l'hépatite C, cette amplification nécessite

une première étape dite transcription reverse qui consiste en une transformation de l'ARN virale en ADN grâce à une transcriptase reverse.

L'amplification génomique par PCR comporte trois étapes[23] :

- La première étape consiste à une dénaturation de l'ADN double brin par rupture de ponts d'hydrogène à température élevée aboutissant à la libération d'ADN simple brin.
- La deuxième étape réalisée à basse température permet le couplage aux deux brins d'ADN, issus de l'étape précédente, de deux amorces oligonucléotidiques complémentaires : l'une de la région 5' et l'autre de la région 3' de la séquence cible.
- Pendant la 3^{ème} étape, l'utilisation d'une polymérase permet la synthèse d'un brin complémentaire par extension à partir des amorces dans le sens 5'- 3'. Il en résulte un dédoublement de la séquence initiale puisque les deux brins issus de l'étape 1 sont copiés. L'opération est ensuite recommencée avec pour chaque cible :
 - un temps de dénaturation de l'acide nucléique à 95° pendant 1 minute ;
 - un temps d'hybridation avec les amorces à 37° pendant 1 minute ;
 - un temps d'extension des amorces à 72° pendant 2 minutes.

L'amplification qui requière environ 35 cycles est ensuite achevée par une extension de 10 minutes à 72°.

4. Coinfection VIH et hépatites B et C

4.1. Impact des infections virales hépatotropes

Les facteurs de risque d'infection par le VIH et les virus hépatotropes étant identiques, les hépatites virales, surtout chroniques, sont fréquentes chez les sujets infectés par le VIH[9].

La coinfection par le VHC et le VIH est fréquente, notamment dans la population des usagers de drogue (de 35 à 90%) ou dans celle des hémophiles (de 60 à 85%), alors qu'elle est de 4 à 8% dans la population homosexuelle masculine. Chez les hémophiles, le génotype du VHC pourrait être impliqué dans l'aggravation de l'évolution de l'infection VIH chez les patients co-infectés, un génotype pour l'infection VHC étant associé à une évolution plus sévère de l'infection VHC.

Chez les sujets co-infectés, il n'y a pas de différence avec la présentation clinique observée chez les sujets immunocompétents. Des études semblent toutefois retrouver une décroissance plus rapide des CD4 comparées à un groupe témoin mono-infecté par le VIH. Néanmoins, la responsabilité du VHC, suspecté d'être un facteur de progression de l'infection à VIH, n'est pas claire. En revanche, il est retrouvé une sévérité accrue de l'hépatite C en cas de coinfection par le VIH.

70% des patients infectés par le VIH présentent des anticorps contre le VHB. La vitesse de progression vers la cirrhose est plus rapide comparée au sujet immunocompétent, malgré une activité plus faible[14].

4.2. Interactions VIH/VHB[10]

La prévalence de l'infection par le VHB est de l'ordre de 30 à 80% chez les malades séropositifs pour le VIH quelque soit le mode de contamination, mais seuls 10% ont une hépatite répliquative.

Son activité est presque toujours marquée, lorsque l'immunodépression est modérée ou absente, mais si elle devient plus sévère, l'hépatite B peut redevenir répliquative, alors que l'activité histologique a tendance à s'amenuiser.

- Influence du VIH sur le VHB[51]

L'infection aiguë par le VHB chez les patients infectés par le VIH se distingue peu de celle décrite chez les patients non infectés par le VIH. Tout au plus, on rapporte une moindre fréquence de l'ictère et un pic d'ALAT plus prolongé. Aucun cas d'hépatite

fulminante due au VHB n'a été rapporté dans cette population. En revanche, le passage à la chronicité apparaît clairement plus fréquent chez les patients infectés par le VIH. Ce passage à la chronicité semble d'autant plus fréquent que le taux de CD4 est bas.

Comme pour le VHC, une coinfection par le VIH et le VHB semble accélérer la vitesse de progression vers la cirrhose par rapport aux sujets infectés par le seul VHB et cela semble survenir en dépit d'une activité inflammatoire hépatique moins sévère.

L'influence du VIH sur le VHB se caractérise par[25] :

- Evolution plus fréquente vers la chronicité
- Augmentation de la réplication virale (\pm corrélée aux CD4)
- Diminution des arrêts spontanés de réplication \pm
- Augmentation de la fréquence des réactivations
- Entraînement des hépatites fibrosantes cholestatiques
- Accélération la vitesse de progression de la fibrose et du risque de cirrhose.

- Influence du VHB sur le VIH[51]

La très grande majorité des études ayant évalué l'impact de l'infection par le VHB sur la progression de la maladie VIH ont montré l'absence d'influence du VHB sur la survie ou la progression vers des stades d'immunodépression sévère. Cependant, 3 études récentes semblent montrer soit un risque augmenté de progression vers le stade SIDA, soit une survie diminuée chez les patients coinfectés par le VIH et le VHB.

L'influence du VHB sur le VIH se caractérise par[25] :

- Accélération de la progression vers le SIDA
- Augmentation de la réplication VIH in vitro
- Séroconversion VIH x2 si VHB.

4.3. Interactions VIH/VHC

La prévalence de l'infection par le VHC chez les malades ayant contracté l'infection à VIH par toxicomanie ou polytransfusion est supérieure à 50%. Elle est marginale dans d'autres cas.

Comme pour l'hépatite B, il existe souvent une activité histologique plus intense qu'en l'absence de co-infection et une viremie plus élevée. Lorsque l'immunodépression s'aggrave, l'hépatite C tend à devenir peu active. Il existe souvent une « séroréversion », ou négativation de la sérologie. L'infection n'est alors plus détectable que par la recherche d'ARN viral (PCR).

- Influence du VIH sur le VHC[40,44]

La coinfection est fréquente et modifie l'histoire naturelle des deux virus :

- Séroréversion plus fréquente : intérêt de la PCR
- Augmentation de la transmission sexuelle et verticale du VHC
- Augmentation de la virémie et du nombre de quasi-espèces
- Entraînement des hépatites fibrosantes cholestatiques
- Accélération de la vitesse de progression de la fibrose et du risque de cirrhose.

- Influence du VHC sur le VIH

- Accélération de la progression vers le SIDA
- Augmentation de la mortalité
- Diminution de la remontée des CD4 sous HAART
- Augmentation du risque de toxicité médicamenteuse.

III. METHODOLOGIE

1. Cadre de l'étude

Notre étude s'est déroulée à l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP), dans le laboratoire d'Immuno-Sérologie du Département de Diagnostic et de Recherches Biomédicales (D.D.R.B).

L'INRSP est une institution de recherche créée par la loi N° 81-17/ AN-RM du 03 mars 1981 en remplacement de l'Institut National de Biologie Humaine (I.N.B.H).

L'INRSP a pour missions :

- ✓ Promouvoir la recherche médicale et pharmaceutique appliquée en santé publique ;
- ✓ Participer à la formation technique, au perfectionnement et à la spécialisation des cadres dans le domaine de sa compétence ;
- ✓ Assurer la production et la standardisation de médicaments traditionnels améliorés, de vaccins et réactifs de laboratoires ;
- ✓ Assurer la protection du patrimoine scientifique relevant de son domaine ;
- ✓ Promouvoir la coopération scientifique nationale et internationale dans le cadre d'accord d'assistance mutuelle ;
- ✓ Coordonner la recherche médicale nationale.

L'INRSP comprend cinq départements et une agence comptable. Ces départements sont :

- Département santé communautaire,
- Département médecine traditionnelle,
- Département formation,
- Département administration et personnel,
- Département de Diagnostic et de Recherche Biomédicale (DDRBB) qui se compose de laboratoires de :
 - Immuno-Serologie
 - Bactériologie

- Hématologie
- Biochimie
- Parasitologie
- Cytogénétique
- Anatomopathologie

2. Type et période de l'étude

Notre étude est une étude descriptive transversale.

Elle s'est déroulée de novembre 2003 à mars 2004.

3. Population d'étude

Notre étude a porté sur les patients vivant avec le VIH repartis entre trois populations qui sont :

- les patients consultants du CESAC
- les femmes enceintes de la CPN
- les sujets dépistés en routine à l'INRSP (malades externes plus hospitalisés).

Nous avons choisi le CESAC et l'INRSP pour avoir la taille de l'échantillon requis car ils représentent les centres de référence pour le dépistage du VIH.

Les femmes enceintes ont été incluses dans notre étude car constituent aujourd'hui un groupe à risque par la transmission mère-enfant.

3.1. Critères d'inclusion

Étaient inclus dans notre étude les patients dont la sérologie VIH était positive ayant accepté de participer à l'étude après un consentement éclairé, quel que soit l'âge, le sexe et la provenance.

3.2. Critères de non inclusion

Étaient exclues de notre étude toutes les personnes dont la sérologie VIH était négative.

4. Echantillonnage

Basé sur une prévalence de 10%[3] du VHC chez les sujets séropositifs au VIH, une précision de 4% un intervalle de confiance de 95%, la taille minimale nécessaire pour cette étude était de 216 sujets VIH séropositifs.

4.1. Matériel et produits pour le prélèvement

Nous disposions :

- d'un garrot
- des aiguilles de prélèvement de sang
- de gants à usage unique
- de tubes secs
- de coton
- d'alcool
- d'eau de javel
- d'un marqueur
- d'une poubelle.

4.2. Collectes des échantillons

L' INRSP :

Les échantillons de sang étaient prélevés dans les tubes secs à l'INRSP, soit acheminés dans les mêmes conditions à l'INRSP à partir des hôpitaux.

Nous disposions dans la salle de prélèvement de deux séries de tubes à hémolyse pour la collecte des échantillons de sang : une série de tubes secs destinés aux analyses sérologiques et biochimiques et l'autre série constituée de tubes avec anticoagulant (du citrate, de l'EDTA ou de l'héparine) destinés à l'hématologie et au groupage sanguin.

Les patients qui se présentaient avec le bulletin d'analyse de sérologie VIH étaient prélevés. Les renseignements socio-démographiques étaient notés au verso des bulletins d'analyses. Après les prélèvements étaient transportés dans le laboratoire de sérologie de l'INRSP pour les tests de sérologie VIH.

Tout tube étiqueté, reconnu VIH positif par le test de l'ImmunoComb[®] II HIV 1 et 2 BiSpot de ORGENICS était testé par le test GENIE II HIV-1 /HIV-2 de BIORAD pour confirmer la sérologie VIH positive.

Après le deuxième test, si la sérologie VIH se révèle toujours positive, le sérum est prélevé et congelé dans un tube (cryo tube) en vue de la recherche de l'Ag anti-HBs et des Ac anti-VHC. Les discordants étaient testés par d'autres tests différents des deux premiers, mais dans notre étude il n'y a pas eu de discordants.

Le CESAC :

Nous avons procédé par les mêmes techniques qu'à l'INRSP pour la sérologie VIH. Ces patients étaient aussi prélevés dans la salle de prélèvement munis de leur bulletin d'analyse de sérologie VIH. Les mêmes renseignements étaient pris comme à l'INRSP. Ensuite les sérums étaient testés dans la salle d'analyse. Le CESAC a le même algorithme de dépistage que l'INRSP.

Les sérums positifs ont été prélevés et mis dans les cryo tubes, puis transportés à l'INRSP, ensuite congelés en vue de la recherche de l'Ag anti-HBs et de l'Ac anti-VHC.

Les femmes de la CPN ont été prélevées lors des missions de la surveillance sentinelle dont le but est d'évaluer la séroprévalence du VIH chez les femmes enceintes. Ces femmes enceintes provenaient des sites suivants : Bamako (les centres de référence des communes), Douentza, Gao, Ansongo, Mopti, Ségou, Bla, Sikasso, Koutiala, Koulikoro. Les sérums étaient transportés des sites de prélèvement à l'INRSP de Bamako après avoir étiqueté et congelé préalablement.

Nous avons testé ces sérums par la technique ELISA (GENSCREEN[®] HIV1/2 version 2 de BIORAD) pour la recherche de l'Ac anti-VIH, ensuite les positifs ont été confirmés

par le test de l'ImmunoComb[®] II HIV 1 et 2 BiSpot de ORGENICS qui a permis de préciser le type de VIH. Les discordants étaient testés par le GENIE II HIV-1/HIV-2 de BIORAD.

Après la confirmation, les sérums positifs ont été congelés en vue de la recherche de l'Ag anti-HBs et de l'Ac anti-VHC.

5. Méthode de laboratoire

5.1. Tests sérologiques du VIH utilisés

Nous avons effectué la recherche d'Ac anti-VIH par le GENSCREEN[®] HIV-1/2 version 2 de BIO-RAD, l'ImmunoComb[®] II HIV 1 et 2 BiSpot de Orgenic et le GENIE II HIV-1/HIV-2 de BIO-RAD.

5.1.1. GENSCREEN[®] HIV-1/2 version 2 de BIO-RAD

✓ Principe

C'est une technique immuno enzymatique basée sur le principe du sandwich en deux étapes, pour la détection des différents anticorps associés aux virus VIH1 et VIH2 dans le sérum ou plasma humain.

Le Genscreen HIV1 et 2 version 2 repose sur l'utilisation d'une phase solide et d'un conjugué.

La mise en œuvre du test comprend les étapes réactionnelles suivantes :

.1. Les sérums à étudier, ainsi que les sérums de contrôle sont distribués dans les cupules. Si des anticorps anti VIH1 et/ou VIH2 sont présents, ils se lient aux antigènes fixés sur la phase solide.

Le dépôt d'échantillon est validé par un changement de couleur, du violet au bleu (SPD = Sample Deposition Proof)

.2. Les antigènes VIH1 et VIH2 purifiés, marqués à la peroxydase, sont ajoutés après lavage. Ils se lient à leur tour aux IgG et/ou IgM et/ou IgA, retenus par la phase solide.

.3. La présence d'enzyme immobilisée sur les complexes est révélée par incubation en présence du substrat après élimination de la fraction de conjugué restée libre.

.4. Après arrêt de la réaction, la lecture s'effectue au spectrophotomètre à 450/620 nm.

L'absorbance observée pour un échantillon permet de conclure quant à la présence ou l'absence d'anticorps anti-VIH1 et/ou VIH2.

✓ Mode opératoire

- Etablir un plan de distribution en prévoyant des cupules pour 1 témoin négatif (R3), 3 témoins seuils (R4), 1 témoin positif (R5) puis pour le nombre d'échantillons (S) à tester

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12

R3	S4											
R4	S5											
R4												
R4												
R5												
S1												
S2												
S3												

- Déposer 25µl de diluant (R6) dans chaque cupule active

- Ajouter 75µl de témoins (1XR3, 3XR4, 1XR5) et d'échantillons en homogénéisant 3 fois

Remarque : si la distribution des échantillons excède 10 min, il est alors recommandé de distribuer les témoins après les échantillons à tester

- Après ajout de l'échantillon, le diluant vire du violet au bleu
- Couvrir la plaque d'un film et incuber dans un incubateur sec pendant 30 min à 37°C
- Retirer le film adhésif et faire trois cycles de lavage
- Distribuer 100µl de conjugué (R7a + R7b) dans toutes les cupules
- Couvrir la plaque et incuber 30 min à la température ambiante (18-30°C)
- Retirer le film et effectuer cinq cycles de lavage
- Distribuer rapidement dans toutes les cupules 80µl de substrat (R8 + R9) et laisser la réaction se développer à l'obscurité pendant 30 min à la température ambiante sans utiliser de film adhésif
- Arrêter la réaction en ajoutant 100µl de la solution d'arrêt
- Lire la densité optique à 450/620 nm à l'aide d'un lecteur de la plaque dans les 30 minutes qui suivent l'arrêt de la réaction.

Calcul de la valeur seuil :

Moyenne des absorbances pour le contrôle positif (faible R4)

$$DO R4 = \frac{Do(B1) + Do(C1) + Do(D1)}{3}$$

$$\text{valeur seuil } V_s = \frac{Do R4}{10}$$

La validation de l'essai

Le sérum de contrôle négatif doit être inférieur à 70% de la valeur seuil :

$DOR3 < 0,7 V_s$ avec $DOR3 =$ absorbance du sérum de contrôle négatif

La moyenne des sérums de contrôle seuil doit être supérieure à 0,80 :

DOR4 > 0,8

Facultatif : le rapport DOR5/DOR4 doit être supérieur ou égal à 1,3 avec DOR5 correspondant à l'absorbance du sérum de contrôle positif.

✓ **Interprétation des résultats**

Les échantillons dont les absorbances sont inférieures à la valeur seuil sont considérés négatifs d'après le test GENSCREEN[®] HIV-1/2 version 2.

Toutefois, les résultats situés juste au-dessous de la valeur seuil ($VS_{10\%} < DO < VS$) doivent être interprétés avec prudence. Il est conseillé de tester de nouveau les échantillons correspondants en double lorsque les systèmes utilisés et les procédures du laboratoire le permettent.

Les échantillons dont les absorbances sont supérieures ou égales à la valeur seuil sont considérés initialement comme positifs d'après le test GENSCREEN[®] HIV-1/2 version 2. Ils doivent être contrôlés de nouveau en double avant l'interprétation finale.

Si après répétition de l'essai, pour un échantillon, l'absorbance du doublet est inférieure à la valeur seuil, le résultat initial est non reproductible et l'échantillon est déclaré négatif selon le test GENSCREEN[®] HIV-1/2 version 2.

5.1.2. L'ImmunoComb[®] II HIV-1/2 BiSpot de Orgenics

✓ **Principe du test**

La trousse ImmunoComb[®] II HIV-1/2 BiSpot est un test immunoenzymatique indirect en phase solide (EIA).

La phase solide est un peigne de 12 dents ; chaque dent était sensibilisée à sa surface en trois points ou spots de réaction :

- spot supérieur : Ac de chèvre anti-immunoglobulines humaines (contrôle interne)
- spot médian : peptides synthétiques VIH-2
- spot inférieur : peptides synthétiques VIH-1

Les anticorps anti-VIH éventuellement présents dans les échantillons testés se lient de façon spécifique aux peptides synthétiques VIH immobilisés à la surface des dents du peigne.

✓ **Mode opératoire**

- Exécuter le test à température.
- Distribuer 50µl de chaque échantillon et contrôle dans les puits du compartiment A du bac de développement et homogénéiser. Insérer le peigne dans le compartiment A, homogénéiser et incuber 10 minutes (réaction Ag-Ac). Retirer le peigne, absorber le liquide résiduel.
- Introduire le peigne dans le compartiment B ; agiter et incuber 2 minutes (lavage). Absorber le liquide résiduel après avoir retiré le peigne.
- Mettre le peigne dans le compartiment C, homogénéiser et incuber 10 minutes (conjugué). Absorber le liquide résiduel après avoir retiré le peigne.
- Insérer le peigne dans le compartiment D. Agiter et incuber 2 minutes (lavage). Retirer le peigne et absorber le liquide résiduel.
- Placer le peigne dans le compartiment E (lavage), procéder comme au compartiment D.
- Introduire le peigne dans le compartiment F, homogénéiser, incuber 10 minutes (révélation). Retirer le peigne.
- Remettre le peigne dans le compartiment E, incuber 1 minute (réaction d'arrêt). Laisser le peigne sécher à l'air.

✓ **Interprétation des résultats**

Lorsqu'une dent affiche uniquement le spot supérieur de contrôle interne, l'échantillon correspondant n'est pas réactif pour les Ac anti-VIH-1 et anti-VIH-2.

Un spot médian, circulaire et uniformément coloré indique la présence d'Ac anti-VIH-2.

Un spot inférieur, circulaire et uniformément coloré indique la présence d'Ac anti-VIH-1.

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

5.1.3. Génie II HIV-1/HIV-2 de BIO-RAD

✓ Principe du test

Le test Genie II HIV-1/HIV-2 est un test immunoenzymatique de double reconnaissance, basé sur la détection spécifique des anticorps anti-VIH-1 et VIH-2 par des antigènes. Le test utilise l'immuno-chromatographie et l'immuno-concentration en combinaison.

Le support de réaction est constitué de deux puits :

le puits A, de forme circulaire, pour le dépôt de l'échantillon, et le puits B, plus grand et elliptique, qui est le puits de réaction.

La membrane du puits B est sensibilisée en deux spots de réaction séparés par des antigènes dérivés du VIH-1 et du VIH-2, et en un troisième spot de contrôle interne permettant le suivi du bon déroulement du test.

✓ Mode opératoire

1. Capture des anticorps anti-VIH

Distribuer 3 gouttes (150µl) de réactif # 1 (Diluant Echantillon) dans un microtube. Ajouter 50µl d'échantillon ou de contrôle. Mélanger le contenu du tube par pipetages successifs. Transférer immédiatement la totalité du contenu du microtube dans le Puits Echantillon A du support de réaction.

Jeter l'embout de la pipette et le microtube en tant que déchet à risque biologique.

Attendre 3 minutes.

Les étapes suivantes sont réalisées dans le Puits de Réaction B seulement

2. Liaison du conjugué

Ajouter 3 gouttes de réactif # 2 (Conjugué Streptavidine/PAL) dans le puits de réaction B

Attendre 3 minutes

3. *Lavage*

Remplir à ras-bord le Puits de Réaction B avec le réactif # 3 (Solution de lavage)

Attendre 1 minute.

4. *Révélation*

Ajouter 2 gouttes de réactif # 4 (Substrat Chromogénique) dans le Puits de Réaction B

Attendre 3 minutes

5. *Réaction d'arrêt*

Remplir à ras-bord le Puits de Réaction B avec le réactif # 5 (Solution d'arrêt)

Attendre l'absorption complète de la solution, et lire le résultat.

✓ **Interprétation des résultats**

positif VIH-1 : l'apparition du spot VIH-1 de gauche avec le spot de Contrôle Interne indique la présence d'anticorps anti-VIH-1

positif VIH-2 : l'apparition du spot VIH-2 du milieu avec le spot de Contrôle Interne indique la présence d'anticorps anti-VIH-2

positif VIH : l'apparition des trois spots indique la présence d'anticorps anti-VIH-1 et/ou VIH-2. Dans ce cas, l'échantillon doit être retesté avec des méthodes complémentaires pour une différenciation plus poussée entre VIH-1 et VIH-2

Résultat Négatif : l'apparition du spot de Contrôle Interne seul indique l'absence d'anticorps anti-VIH.

Toute trace de spot coloré doit être suspectée de représenter un résultat positif et doit faire l'objet d'investigations supplémentaires
--

5.2. Test sérologique du VHB utilisé

Légende : BLK = blanc NC = contrôle négatif PC = contrôle positif

S = échantillon

- Mettre l'incubateur à 37°C
- Distribuer 100 µl de contrôle négatif (3), de contrôle positif (2) et d'échantillons dans leurs puits respectifs (respecter scrupuleusement le schéma de plaque)
- Recouvrir d'un film adhésif
- Incubation 1 heure à 37°C en chambre humide
- Préparation du traceur dilué : 100 µl de traceur concentré + 4.9 ml de diluant traceur pour 5 barrettes
- Lavage de la plaque 5 fois avec 350 µl de solution de lavage diluée (40 mL de solution de lavage concentrée dans 960 ml d'eau)
- Distribuer 100 µl de la solution de traceur enzymatique dilué dans tous les puits sauf le blanc
- Recouvrir d'un film adhésif
- Incubation 1 heure à 37°C en chambre humide
- Lavage de la plaque 5 fois avec 350 µl de solution de lavage diluée (40 mL de solution de lavage concentrée dans 960 ml d'eau)
- Distribuer 100 µl de la solution chromogène/substrat (mélanger cette solution à volumes égaux ex : 1 ml de chromogène + 1 ml de substrat pour 2 barrettes) dans tous les puits
- Incubation 30 minutes à température ambiante et à l'obscurité (attention à valider en fonction de la t°C du laboratoire si climatisé)
- Distribuer 100 µl réactif bloquant dans tous les puits
- Lecture à 450/620 nm dans l'heure qui suit la distribution du réactif bloquant

✓ **Interprétation des résultats**

. Valider la moyenne (m) des NC si $mNC = -0.010 < NC < 0.05$

. Valider le PC si $mPC - mNC \geq 0.500$

. Calculer la valeur seuil $VS = mNC + 0.03$

. Une zone grise ZG est définie en deçà et au-delà de 10% de la VS

($0.9 \times VS < ZG < 1.1 \times VS$)

DO d'un échantillon $<$ à ZG \rightarrow résultat négatif

DO d'un échantillon $>$ à ZG \rightarrow résultat positif

DO d'un échantillon $=$ à ZG \rightarrow à contrôler en doublet

Exemple :

NC1 = 0.009

NC2 = 0.011 \rightarrow mNC = 0.009

NC3 = 0.007

PC1 = 1.538

PC2 = 1.416 \rightarrow mPC = 1.468 \Rightarrow mPC $>$ 0.500

VS = 0.03 + 0.009 = 0.039

DO S1 = 1.952 \rightarrow positif

DO S2 = 0.025 \rightarrow négatif

5.3. Test sérologique du VHC utilisé

TECHNIQUE DE DETECTION DES ANTICORPS ANTI-HCV (VIRUS DE L'HEPATITE C) DANS LE SERUM OU LE PLASMA HUMAIN PAR LA TECHNIQUE MONOLISA ANTI-HCV PLUS BIORAD

✓ But

La méthode immuno-enzymatique de type indirect de ce test permet le dépistage des anticorps associés à une infection présente ou passée par le virus de l'hépatite C dans le sérum ou le plasma humain.

S2											
S3											

- Déposer 80 µL de diluant (R6) dans chaque cupule réactive
 - Ajouter 20 µL de témoins (2XR3, 3XR4) et d'échantillons en homogénéisant 3 fois
- Remarque : si la distribution des échantillons excède 10 min, il est alors recommandé de distribuer les témoins négatifs (R3) et positifs (R4) après les échantillons à tester
- Après ajout de l'échantillon, le diluant vire du violet au bleu
 - Couvrir d'un film transparent adhésif
 - Préparer la solution de lavage
- Pour 12 barrettes ; 50 ml de solution de lavage concentrée (R2) dans 450 mL d'eau distillée (dilution au 1/10), homogénéiser
- Incubation 60 minutes à 37°C
 - Eliminer le contenu des cupules puis les laver avec 370 µL de solution de lavage diluée au 1/10, un minimum de 4 lavages est nécessaire.
- Tapoter la plaque sur un papier absorbant pour éliminer l'excès de solution de lavage
- Déposer 100 µL de la solution de conjugué (R7) en ayant au préalable agité le flacon
 - Couvrir d'un film transparent adhésif
 - Incubation 30 minutes à 37°C
 - Eliminer le contenu des cupules, puis les laver avec 370 µL de solution de lavage diluée au 1/10, un minimum de 4 lavages est nécessaire.
- Tapoter la plaque sur un papier absorbant pour éliminer l'excès de solution de lavage
- Préparer la solution de révélation (R8+R9)
- Pour 12 barrettes ; 1 ml de réactif R9 dans 10 ml de réactif R8, homogénéiser
- Déposer 100 µL de cette solution de révélation préalablement préparée dans chaque cupule
 - Laisser la réaction se développer à l'obscurité pendant 30 min. à température ambiante (18 à 30°C)

Remarque : la solution de révélation est de couleur rose, les échantillons négatifs seront roses et les échantillons positifs seront bleus

- Additionner 100 µL de solution d'arrêt (R10) dans chaque cupule

A ce stade, les échantillons négatifs deviennent incolores et les échantillons positifs virent au jaune

- Attendre au moins 4 minutes avant lecture (un temps d'attente de 30 minutes est toléré avant lecture) au spectrophotomètre à 450/620 nm

✓ **Interprétation des résultats**

. Pour les contrôles négatifs (R3) : les absorbances doivent être inférieures à 0,150

. Pour les contrôles positifs (R4) : la moyenne (m) des absorbances doit être $1,000 \geq m R4 \leq 2,400$

Si l'une des absorbances des R4 s'éloigne de 30% de la moyenne, refaire le calcul avec les 2 témoins positifs restants

. Calculer la moyenne des témoins positifs m R4

(= $R4' + R4'' + R4''' / 3$)

. Calculer la valeur seuil VS

$$VS = \frac{m R4}{5}$$

. Les DO des échantillons < VS → rendre négatif

. Les DO des échantillons > VS → rendre positif, contrôler par un second prélèvement ou tester à nouveau, mais en double

. Les DO des échantillons > VS – 10% → repasser en double

Exemple :

$$\begin{aligned}
 R4' &= 1,636 & 1,636 + 1,704 + 1,650 \\
 R4'' &= 1,704 \rightarrow m R4 = \frac{\quad}{3} = 1,663 \\
 R4''' &= 1,650 \\
 & & 1,663 \\
 V_s &= \frac{\quad}{5} = 0,333
 \end{aligned}$$

DO S1 = 0, 990 → S1 est positif, demander un prélèvement de contrôle ou tester à nouveau l'échantillon en double

DO S2 = 0,150 → S2 est négatif

DO S3 = 0, 371 → S 3 est à tester à nouveau en double, et demander un prélèvement ultérieur si la limite persiste.

6. Traitement informatique et Analyse des données

Les données ont été enregistrées sur le logiciel Microsoft Excel 2000 et analysées au logiciel SPSS 11. Le test χ^2 a été utilisé pour comparer les proportions. Le seuil de signification était de 0,05. Ainsi toute différence observée entre les pourcentages mesurés était considérée statistiquement significative quand la probabilité (p) était < 0.05 .

IV. RESULTATS

1. Résultats globaux

1.1. Caractéristiques socio-démographiques

Tableau III : Répartition des patients selon les sites d'étude.

Population	Effectif	Pourcentage
CESAC	103	42,6
Femmes enceintes de la CPN	46	19,0
INRSP	93	38,4
Total	242	100

L'effectif des patients du CESAC était le plus élevé soit 42,6% de la population et l'INRSP avait un effectif de 93 (38,4%). Les femmes enceintes de la CPN représentaient l'effectif le plus petit de notre étude avec 19,0% .

Tableau IV : Répartition des patients selon la résidence

Résidence	Effectif	Pourcentage
*Bamako	182	75,2
Koulikoro	24	9,9
Ségou	18	7,4
Sikasso	12	5,0
**Autres	6	2,5
Total	242	100

Bamako avait le nombre de patients le plus élevé avec 75,2% par rapport aux autres localités.

*Bamako : les patients étaient repartis entre les 6 communes.

**Autres étaient constitués par les localités suivantes : Kayes (1 patient), Mopti (1 patient), Gao (2 patients), Douentza (1 patient), Ansongo (1 patient).

Tableau V : Répartition des patients selon l'âge

Tranche d'âge	Effectif	Pourcentage
1-17 ans	13	5,4
18-29 ans	90	37,2
30-39 ans	96	39,7
40 ans et +	43	17,8
Total	242	100

L'âge de nos patients variait de 1 à 60 ans. La moyenne d'âge était de 31 ans et cette moyenne variait significativement en fonction du sexe ($X^2 = 3266,26$ et $P < 0,001$). Cette moyenne était de 28 ans chez les femmes et 36 ans chez les hommes.

La tranche d'âge de 30-39 ans était la plus représentée avec 39,7% et celle de 1-17 ans était la moins représentée avec seulement 5,4%.

Tableau VI : Répartition des patients selon le sexe

Sexe	Effectif	Pourcentage
Féminin	158	65,3
Masculin	84	34,7
Total	242	100

Le sexe ratio était de 1,88 en faveur des femmes. Dans la population féminine (65,3%), 29,11% étaient des femmes enceintes.

Tableau VII : Répartition des patients selon le type de VIH

Type de VIH	Effectif	Pourcentage
VIH1	214	88,4
VIH2	20	8,3
VIH1 et VIH2	8	3,3
Total	242	100

Dans notre population d'étude, 88,4% avaient le VIH1, 8,3% le VIH2, et 3,3% seulement avaient une infection mixte VIH1+VIH2.

1.2. Séroprévalence des hépatites B et C.

Tableau VIII : Séroprévalence des hépatites B et C selon les sites d'étude.

Site	Effectif total	VHB+		VHC+	
		Effectif +	%	Effectif +	%
CESAC	103	22	21,4	11	10,7
Femmes enceintes de la CPN	46	8	17,4	1	2,2
INRSP	93	22	23,7	8	8,6
Total	242	52	21,5	20	8,3

La séroprévalence globale de l'hépatite B était de 21,5%, et celle de l'hépatite C était de 8,3%.

La séroprévalence pour l'hépatite B variait de 23,7% chez les patients de l'INRSP ; 21,4% pour les patients du CESAC. Elle était relativement basse pour les patientes de la CPN (17,4%).

Pour l'hépatite C, la séroprévalence variait de 10,7% pour les patients du CESAC ; 8,6% pour les patients de l'INRSP. Elle était basse pour les patientes de la CPN.

La séroprévalence pour les hépatites B et C ne variait pas significativement selon les sites. (Pour l'hépatite B, $X^2 = 0,718$ et $P = 0,698$; pour l'hépatite C, $X^2 = 3,057$ et $P = 0,217$).

Tableau IX : Séroprévalence des hépatites B et C selon la résidence

Lieu de résidence	VHB+		VHC+		Effectif total
	Effectif +	%	Effectif +	%	
Bamako	42	23,0	17	9,4	182
Koulikoro	6	25,0	2	8,3	24
Ségou	1	5,6	1	5,6	18
Sikasso	3	25,0	0	0	12
Autres	1	16,7	0	0	6

Koulikoro et Sikasso avaient les prévalences les plus élevées (25,0%) par rapport à Bamako qui était de 23,0% pour l'hépatite B. A Bamako la C III avait la prévalence la plus élevée avec 30,8% et la C VI avait la moins élevée avec 10,7%.

Pour l'hépatite C, la prévalence était plus élevée à Bamako avec 9,4% et il n'y avait pas de positifs aux VHC à Sikasso et Autres (Prévalence nulle). A Bamako, la prévalence était plus élevée en C VI avec 17,9% et elle était nulle en C II.

La séroprévalence pour les hépatites B et C ne variait pas significativement.

(Pour l'hépatite B, $X^2 = 8,107$ et $P = 0,523$; pour l'hépatite C $X^2 = 7,229$ et $P = 0,613$)

Tableau X : Séroprévalence des hépatites B et C selon l'âge

Tranche d'âge	Effectif total	VHB+		VHC+	
		Effectif +	%	Effectif +	%
1-17 ans	13	3	23,0	0	0
18-29 ans	90	13	14,4	8	8,9
30-39 ans	96	28	29,2	8	8,4
40 ans et +	43	8	18,6	4	9,3

On a observé une prévalence plus élevée dans la tranche d'âge de 30-39 ans avec 29,2% pour l'hépatite B.

Pour l'hépatite C, la tranche d'âge de 40 ans et + avait la prévalence la plus élevée avec 8,9% et il n'y avait pas de positifs au VHC dans la tranche d'âge de 1-17 ans.

Il n'y avait pas de variation significative pour les hépatites B et C avec l'âge.

(Pour l'hépatite B, $X^2 = 6,233$ et $P = 0,101$; pour l'hépatite C, $X^2 = 1,279$ et $P = 0,734$).

Tableau XI : Séroprévalence des hépatites B et C selon le sexe

Sexe	VHB+		VHC+		Effectif Total
	Effectif +	%	Effectif +	%	
Féminin	34	21,5	11	7,0	158
Masculin	18	21,4	9	10,7	84

La séroprévalence de l'hépatite B était de 21,5% chez les femmes et de 21,4 chez les hommes.

Le sexe masculin avait la prévalence la plus élevée pour l'hépatite C soit 10,7%.

La séroprévalence de l'hépatite B et l'hépatite C ne variait pas significative selon le sexe. (Pour l'hépatite B, $X^2 = 0,000$ et $P = 0,987$; pour l'hépatite C, $X^2 = 1,018$ et $P = 0,313$).

Tableau XII : Séroprévalence des hépatites B et C selon le type de VIH

Type de VIH	VHB+		VHC+		Effectif total
	Effectif +	%	Effectif +	%	
VIH 1	43	20,1	18	8,4	214
VIH 2	8	40,0	1	5,0	20
VIH 1 et 2	1	12,5	1	12,5	8

Dans notre étude, les patients infectés par le VIH2 avaient la prévalence la plus élevée pour l'hépatite B soit 40,0%.

Pour l'hépatite C, les patients qui ont l'infection mixte VIH1+VIH2 avait la prévalence élevée avec 12,5%.

La variation de la prévalence n'était significative pour les hépatites B et C selon le type de VIH. (Pour l'hépatite B, $X^2 = 4,692$ et $P = 0,096$; pour l'hépatite C, $X^2 = 0,477$ et $P = 0,788$).

2. Coinfection VHB VHC

Tableau XIII : Coinfection selon les sites d'études.

Site	Effectif total	VHB+ VHC+	
		Effectif +	%
<i>CESAC</i>	103	1	0,9
Femmes enceintes de la CPN	46	0	0
INRSP	91	2	2,2
Total	242	3	1,2

1,2% de la population d'étude présentait la coinfection.

La coinfection était plus fréquente à l'INRSP avec 2,2%.

La variation de la coinfection n'était pas significative selon les sites d'étude. ($X^2 = 1,268$ et $P = 0,530$).

Tableau XIV : Coinfection selon la résidence

Résidence	Effectif total	VHB+VHC+	
		Effectif +	%
Bamako	182	3	1,6
Koulikoro	24	0	0
Ségou	18	0	0
Sikasso	12	0	0
Autres	6	0	0

Seul Bamako présentait la coinfection avec 1,6%. A Bamako la fréquence de la coinfection était de 7,7% et de 2,3% dans les C III et C I.

Il n'y avait pas de variation significative selon la résidence. ($X^2 = 11,428$ et $P = 0,248$).

Tableau XV : Coinfection selon l'âge

Tranche d'âge	Effectif total	VHB+VHC+	
		Effectif +	%
1-17 ans	13	0	0
18-29 ans	90	2	2,3
30-39 ans	96	1	1,1
40 ans et +	43	0	0

Les tranches d'âge de 18-29 ans et de 30-39 ans présentaient la coinfection avec 2,3% et 1,1%.

La variation de la coinfection n'était pas significative selon l'âge. ($X^2 = 1,443$ et $P = 0,695$).

Tableau XVI : Coinfection selon le sexe

Sexe	Coinfection +	Coinfection -	Total
Féminin	0	158	158
Masculin	3	81	84
Total	3	239	242

Dans notre étude, seul le sexe masculin présentait la coinfection avec 3,6% (N=84).

IL n'y avait pas de variation significative selon le sexe. ($X^2 = 1,615$ et $P = 0,204$).

Tableau XVII : Coinfection selon le type de VIH

Type de VIH	Coinfection +	Coinfection -	Total
VIH 1	3	211	214
VIH 2	0	20	20
VIH 1+VIH 2	0	8	8
Total	3	239	242

Seuls les patients infectés par le VIH1 avaient la coinfection avec 1,4%.

La variation de la coinfection n'était pas significative selon le type de VIH.

($X^2 = 0,397$ et $P = 0,820$).

V. COMMENTAIRES ET DISCUSSIONS

1. Aspects socio-démographiques

Dans notre étude le sexe ratio était de 1,8 en faveur des femmes. Ceci est conforme aux résultats de l'EDS III en 2001 au Mali a trouvé que les femmes étaient plus infectées que les hommes. La même tendance est trouvée chez Balkissa[3] dans une étude au CNTS de Bamako en 2003 (sexe ratio =1,8).

Les tranches d'âge les plus fréquentes étaient situées entre 30-39 ans (39,7%) et entre 18-29 ans (37,2%) ; les enfants de 1-17 ans étaient les moins représentés avec 5,4. Ce qui signifie que les enfants sont moins exposés au risque VIH que les adultes.

La majorité de nos patients résidaient à Bamako soit 75,2% de la population. Ces patients étaient repartis entre les 6 communes de Bamako et la C I était la plus représentée avec 23,6%.

La majorité de nos patients ont été prélevés au CESAC (42,6%), 38,4% à l'INRSP et 19,0% chez les femmes enceintes de la CPN.

Le VIH-1 était plus fréquent avec 88,4% et 8,3% des patients avaient le VIH-2. L'infection mixte VIH-1 + VIH-2 était retrouvée chez 3,3% des patients. Par contre Balkissa[3] retrouve dans son étude une fréquence de 89,1% pour le VIH-1, 3,1% pour le VIH-2 et 7,8% pour le VIH-1 + VIH-2. Gouentoi[15], dans son étude au CNTS de Bamako en 1998 a retrouvé, une fréquence de 63% pour le VIH-1, 15% pour le VIH-2 et 22% pour le VIH-1 + VIH-2.

2. Séroprévalence des hépatites B et C

2.1. Séroprévalence de l'hépatite B

Dans notre étude l'analyse de nos échantillons par la technique ELISA Eti Mak 4 Sorin nous a permis d'obtenir 23,7% de positifs au VHB pour l'INRSP ; 21,4% pour le CESAC

et 17,4 pour les femmes enceintes. Au total, nous avons obtenu 52 positifs au VHB sur 242 patients soit une prévalence de 21,5% pour l'hépatite B.

La séroprévalence de l'hépatite B apparaît plus élevée dans notre étude comparée à celles effectuées chez les donneurs de sang en Afrique.

Guindo[35] dans une étude du CNTS de Bamako chez les donneurs de sang en 2003, a trouvé 1,13% de VHB+ dans une population de 113 patients infectés par le VIH. Par ailleurs d'autres études nous donnent les résultats suivants : 1% en République Démocratique du Congo sur 7277 donneurs de sang [8] ; 0,69% au Cameroun [4] ; 1,8% en Inde sur 1981 individus dont 1157 femmes et 824 hommes [45]. Des prévalences relativement plus élevées ont été trouvées à Brazzaville 5,76% [50]. Il faudrait noter que ces résultats sont discordants chez les donneurs de sang.

Par contre les prévalences sont beaucoup plus élevées en France, au service de Hépatogastro-Entérologie du CHU de la Pitié-Salpêtrière, la prévalence de l'infection par le VHB est de l'ordre de 30 à 80% chez les malades positifs pour le VIH [10] ; dans ce même CHU Benhamou[51] en 2000 trouve que 70% des patients infectés par le VIH ont un marqueur du VHB, 10 à 15% d'entre eux sont porteurs chroniques de l'AgHBs. A noter que ces études ont été menées en milieu hospitalier.

Boulière[25] en 2003 a trouvé que 90% des patients infectés par le VIH ont un marqueur du VHB, 10% sont porteurs de l'AgHBs, mais plus ont l'ADN VHB+.(Le lieu d'étude n'est pas précisé).

La prévalence de l'hépatite B était plus fréquente à Bamako que dans les autres localités avec 9,4%.

Les tranches d'âge de 30-39 et de 1-17 avaient les fréquences les plus élevées.

Parmi nos patients 21,5% des femmes étaient positives aux VHB contre 21,4% pour les hommes. Ces prévalences sont identiques.

Les patients infectés par le VIH-2 étaient les plus touchés avec une prévalence de 40% que ceux infectés par le VIH-1 et l'infection mixte VIH-1+VIH-2. Mais la différence n'était pas significative.

2.2. Séroprévalence de l'hépatite C

Le tableau VIII de nos résultats nous montre que la séroprévalence de l'hépatite C était de 10,7% au CESAC ; 8,6% à l'INRSP et 2,2% chez les femmes enceintes de la CPN. Ceci était dû au fait que la prévalence était encore plus élevée chez les hommes (10,7%) que chez les femmes (7,0%), alors les deux sexes étaient présents au CESAC et à l'INRSP.

La séroprévalence globale était de 8,3% soit 20 positifs au VHC sur 242 patients.

Balkissa[3] dans son étude au CNTS de Bamako en 2003, a trouvé 5,4% de sujets anti-VHC positifs parmi les donneurs de sang VIH négatif, 9,2% de sujets anti-VHC positifs dans la population des donneurs de sang VIH positif et 41% de séropositifs au VHC chez les malades du SIDA. Cela nous montre qu'il y a un lien entre l'infection par le VHC et le statut sérologique des sujets vis à vis du VIH.

Lors d'une enquête nationale transversale hospitalière effectuée en France en juin 2001 sur la coinfection VIH-VHC, sur 1813 patients séropositifs au VIH, 28% étaient également séropositifs au VHC. Cette proportion varie avec les groupes à risque (84% chez les toxicomanes, 53% chez les transfusés, 6% chez les homosexuels et 9% chez les hétérosexuels) et le stade de la maladie à VIH.

Lorsqu'ils avaient été biopsiés, 16% des patients coinfectés présentaient une cirrhose histologique [36].

Dans une cohorte de EUROSIDA de 3048 individus VIH positif, 33% étaient séropositifs au VHC mais 75% d'entre eux avaient un antécédent d'usage de drogue [39].

Une étude effectuée en Suisse par GREUB et al. a trouvé que parmi 3111 patients infectés par le VIH, 1157 soit 37,2% étaient également infectés par le VHC et 1015 soit 87,7% d'entre eux avaient un antécédent d'usage de drogue [16].

En Afrique, il n'existe pas assez de données (cliniques, statistiques) sur la coinfection VHC-VIH.

Boulière[25] dans une étude, a trouvé dans la population générale 0,3-1,5% ; dans la population VIH 8-30% ; chez les toxicomanes 52-90% ; 60-85% chez les hémophiles et 4-8% chez les homosexuels.

Dans notre étude Bamako a montré la fréquence la plus élevée avec 9,4%, suivi de Koulikoro(8,3%) et Ségou (5,6%). Dans les autres localités la séroprévalence du VHC était nulle .

Les tranches d'âge de 18-29 ans et de 30-39 ans étaient les plus touchées avec 8% et il n'y avait pas de coinfection chez les enfants de 1-17 ans.

La coinfection VIH-VHC était plus fréquente chez les patients infectés par l'infection mixte VIH-1 + VIH-2 (12,5%).

Ces différents résultats nous montrent que la coinfection VIH/VHC est fréquente, or elle peut modifier l'histoire naturelle de l'infection par le VIH et entraîner aussi des conséquences thérapeutiques[25].

3. Coinfection VHB VHC

A notre connaissance, dans la littérature très peu d'études ont été consacrées à la coinfection VHB+VHC chez les personnes vivant avec le VIH.

Dans notre étude 1,2% de la population d'étude présentait cette coinfection VHB+VHC. Tous les cas de coinfection ont été retrouvés dans le district de Bamako.

Les tranches d'âge de 18-29 ans et de 30-39 ans ont été les seules à présenter la coinfection VHB+VHC avec 2,3% et 1,1%, probablement en rapport avec l'activité sexuelle beaucoup plus prononcée chez les adolescents et adultes.

Seulement les hommes ont fait la coinfection avec 3,6%. La coinfection a été retrouvé chez les patients infectés par le VIH-1.

Les résultats de notre étude montrent que la fréquence de la coinfection VHB+VHC n'est pas très élevée comme celles de la coinfection VIH-VHB et la coinfection VIH-VHC qui ont des fréquences élevées surtout chez certains groupes à risque.

Compte tenu de la pauvreté des données de la littérature, ces résultats apparaissent cependant précieux et constituent une base documentaire pour les études à venir.

CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS

Conclusions

Au terme de notre étude, les résultats auxquels nous avons abouti sont les suivants :

- Coinfection VIH-VHB = 21,5%
- Coinfection VIH-VHC = 8,3%
- Coinfection VIH-VHB-VHC = 1,2%

Ces résultats nous ont conduit aux conclusions suivantes :

- Les coinfections VIH-VHB et VIH-VHC sont élevées et ne font qu'augmenter.
- Ces coinfections étaient plus élevées chez les adultes et que les hommes étaient plus touchés que les femmes. (Les femmes enceintes avaient une fréquence légèrement élevée dans la population d'étude).
- La coinfection VIH-VHB-VHC n'est pas très fréquente au Mali, elle n'a été présente que chez les hommes à Bamako. Elle semble liée aussi à l'infection à VIH.
- L'infection par le VIH est très souvent associée avec le VHB et le VHC par conséquent pourrait modifier l'histoire naturelle des ces virus hépatotropes.

Recommandations

Nos recommandations sont les suivantes :

A l'INRSP

- poursuivre l'étude de la coinfection VIH-VHB-VHC, surtout en relation avec l'évolution du SIDA et le traitement anti-retroviral.

Aux autorités

- doter l'INRSP de matériels informatiques pour les laboratoires, de matériels de laboratoire et de réactifs de laboratoire pour la recherche sur ces infections.
- prendre en charge les patients coinfectés.

Aux personnels de laboratoire

- se protéger lors des manipulations.

- observer les bonnes pratiques de laboratoire.

A la population

- utiliser les moyens nécessaires pour prévenir le VIH/SIDA et les autres IST.

FICHE SIGNALETIQUE

Nom : BA

Prénom : Alhassane

Titre : Evaluation de la co-infection VIH/hépatites B et C dans trois populations vues en milieu urbain au Mali.

Année de soutenance : 2004

Ville de soutenance : Bamako

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

Secteur d'intérêt : Virologie, INRSP.

RESUME

Nous avons effectué cette étude à l'INRSP de Bamako, sur un échantillon de 242 patients vivant avec le VIH dont 65,3% étaient de sexe féminin et parmi celles 29,11 étaient des femmes enceintes.

L'étude avait pour but d'évaluer la coinfection VIH/hépatite B et C chez les personnes vivant avec le VIH.

La recherche de l'AgHBs et de l'anti-VHC a été faite par des méthodes immunoenzymatique de type Elisa.

Les tests ont mis en évidence les résultats suivants :

- coinfection VIH-VHB : 21,5%
- coinfection VIH-VHC : 8,3%
- coinfection VIH-VHB-VHC : 1,2%

La fréquence des coinfections VIH-VHB et VIH-VHC étaient surtout élevées chez les adultes et touchaient plus les hommes.

La coinfection VIH-VHB-VHC n'a pas été très élevée et n'était présente que chez les hommes à Bamako.

Il ressort de cette étude que l'infection par le VIH est très souvent associée avec le VHB et le VHC. Cette association pourrait modifier le cours naturel de l'infection au VIH et entraîner des conséquences thérapeutiques.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

[1] A MAMETTE.

Virologie médicale, à l'usage des étudiants et des praticiens, par les professeurs et maître de conférences de bactériologie et virologie médicale ; 14^{ème} Edition ; 1992 : 469 p.

[2] A MAMETTE.

Virologie médicale ; collection Azay, presse universitaire de Lyon ; 2002 : 798P.

[3] Balkissa Garba Katambé.

L'hépatite C chez les donneurs de sang et les malades du SIDA à Bamako. Thèse pharmacie. N°40.

[4] Barre Sinoussi F, Chermann JC, Rey F.

Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). Science 1983; 220: 868-871.

[5] Bougernouth ET Belasses H. Algérie Santé.

[6] Bougoudogo F, Diarra S, Traoré S, Niangaly A.

Rapport sur la séro-prévalence des marqueurs de l'infection par le virus de l'hépatite B au Mali; 2001: 1-35.

[7] Candranel JC.F., Caron C., Gallot G., Vanbatten C., Dunouchel P.

Hépatite B : Epidémiologie, histoire naturelle, biologie, surveillance du traitement. Path Biol 1999. 47 (5).

[8] C. Mbendi, N Lombi. Mbemza.

Prévalence du VIH et de l'Ag HBs chez les donneurs de sang. Risque de contamination chez les receveurs de sang à Kinshasa-Est, République démocratique du Congo.

Med. Trop. 2001 ; 61 : 139-142.

[9] C : \ hépatites virales et infections VIH.htm

[10] CHUPS-hépto-Gastro-Entérologie – DCEM1.htm

[11] Colimon.

Virus de l'hépatite B. Département de virologie CHU de Rennes, 2 rue Henri Le Guilloux, 35033 Rennes Cedex ; 2002.

[12] Didier M.

Service de pathologie digestive. Paris-94 160 St Mandé : HIA Bejin ; 69.

[13] Fatoumata Djibo Oumarou.

Séroprévalence de l'infection par le VIH, le virus de l'hépatite B, les tréponèmes chez les donneurs de sang et risque transfusionnel du virus de l'hépatite C à Niamey. Thèse Pharmacie. 2003 : N°32.

[14] Gilles Pialoux.

Guide infection à VIH. Hebdo Impact Médecin, 2001 : 171-172.

[15] Gouantoi Coulibaly.

Infection à cytomégalovirus chez les donneurs de sang à Bamako. Thèse Pharmacie ; Bamako ; 1998 : N°26.

[16] Greub B, Lebergerber B, Battegay M et al.

Clinical progression; survival and immune recovery during antiretroviral therapy in patients with HIV-1 and hepatitis C virus coinfection: the swiss HIV cohort study. *Lancet* 2000; 356: 1800-05.

[17] [http : // perso.wanado.fr.sos.hepatites/ou/hepb/transmit.htm](http://perso.wanado.fr/sos.hepatites/ou/hepb/transmit.htm)

[18] [http : // perso.wanado.fr/sos.hepatites/ou hepb/histo.htm](http://perso.wanado.fr/sos.hepatites/ou/hepb/histo.htm)

[19] [http : // www.ressy.org/dossiers/hepatologie/epidemiologie](http://www.ressy.org/dossiers/hepatologie/epidemiologie) hépatite chtm.

[20] Jager H, Nseka K, Goussard B et coll.

Voluntary blood donor recruitment : a strategy to reduce transmission of HIV-1, hepatitis B and syphilis in Kinshasa, Zaire. *Infusionstherapie* 1990; 17:224-226.

[21] Jean-Marie Huraux, H. Agut, J-C. Nicolas, H. P. Lafeuille.

Virologie médicale. Deboeck diffusion ; 7 rue Jacquemont 750 17 Paris. Edition ESTM ; 2003 : 699P.

[22] Kernbaum S., Caraille C. M., Klatz Maud D., Gluckman J. C. , Saimot A. G.
Syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA). Paris (France) ; Ency Med Chir Mal Infect 1985 ; 8002 B10, 6 :14.

[23] Laurant F. Li J.S., Vitvtsky L., Berby F. Lanelin J.P., Alonso C., Trépo C.
Interêt de la PCR dans le diagnostic des hépatites C. Rev Fr Transf hémobiol, 1992 ; 35 (3) : 221-24.

[24] Linneman C.C., Golberg S.
HBs Ag in break milk lancet. 1974: 1955.

[25] M. Boulière.
Coinfection VIH-VHC-VHB ;2003.

[26] OMS.
Situation et tendances des épidémies du VIH/SIDA en Afrique sub-saharienne. Final report. Abidjan Côte d'Ivoire: 1997.

[27] OMS. Niger 1998 : n°03.

[28] OMS.
Le point sur la pandémie mondiale du VIH fin 2001, REH 2001 ; 7,6 (49) :381-6.

[29] OMS 2000 : Aide mémoire N°204 révisé en octobre 2000.

[30] OMS 2002 : Aide mémoire N°164 octobre 2000.

[31] OMS.
Rapport sur la santé dans le monde ; 2003.

[32] OMS / ONU-SIDA.
Le point sur l'épidémie de SIDA ; décembre 2003.

[33] ONU-SIDA.
Rapport sur l'épidémie mondiale du VIH/SIDA. 2000 : 135 P.

[34] ONU-SIDA.
Le point sur l'épidémie du SIDA, décembre 2002.

[35] Oumar Guindo.

Infections à VIH et à VHB chez les donneurs de sang au CNTS de Bamako. Thèse pharmacie ; Bamako ; 2003 : N°47.

[36] Pascal G, Dominique S, Gilles P, Josiane H, Elisabeth D.

« Coinfection VIH-VHC à l'hôpital, Enquête nationale, juin 2001 ». InVS, collection Enquêtes-Etudes, avril 2002.

[37] Pascal J.P.

Transmission et prévention des hépatites virales. Paris : revue du praticien ; 1995. 45 : 174-6.

[38] Prince A.M., Metdelaar D. et coll.

Hépatite B antigen in world Caught mosquitoes in Africa lancet. 1972: 442-0.

[39] Rafael R et al.

Hepatitis C, an emerging problem in HIV infected patients. *AIDS Rev* 1999; 1: 22-8.

[40] Rossi SJ et al. JAMA 2002 ; 288 :241-243.

[41] Saiki R.K., Gelfand DH., Stoffel S., Hiquchi R., Horn GI. Mullis KB., Erlich HA. Primer directed enzymatic amplification with a thermostable DANN polymerase. *Sciences*; 1988; 239: 287-91.

[42] Simpore J.K., Pignatellissi A.D.

Evaluation thérapeutique des médicaments traditionnels dans la prise en charge des personnes vivant avec le VIH/SIDA. 12^{ème} conférence sur le SIDA et les MST en Afrique. Livre des résumés. Burkina Faso : 13 PT 3-6 :353.

[43] Spire B. Sire J.

Biologie moléculaire du virus VIH.

In : Azoule M., Barré Sinoussi F. ; Chairman J.C., Henrion R., Levy J.-P. SIDA. Colloque INSERM ; 1989 ; 200 : 19-36.

[44] Sulkowki MS et al. JAMA 2002 ; 288 : 199-205.

[45] Thomas K, Thyagarajan SP, Jeyasselan L, Varghese JC, Krishnamurthy P, Bai L, Hira S, Sudhakar K, Peedicayil A, George S, George R, Rajendran P, Joyee AG, Hari D, Balakrishnan, Sethuraman N, Gharpure H, Srinivasan V.

Community prevalence of sexually transmitted diseases and human immunodeficiency virus infection in tamil Nuda, India : a probability proportional to size cluster survey.
Natl Med J India 2002 May-jun; 15 (3) : 135-40.

[46] Trèpo C. Chosse Gros P., Chevalier P., Sepetjan M.

Nouvelle strategie en vue de la détection et du contrôle des hépatites virales.
Paris : labo Abbott ; 1982.

[47] Vignon D., le frère J.J.

Contaminations virales par tranfusion. Cours de virologie médicale. Institut Pasteur, 1990.

[48] Vincent. Thibault.

Prise en charge de la coinfection par le VIH et le VHB : place des analogues nucléotidiques. Revue de virologie, vol 7 (numéro spécial) ; septembre 2003 : S 105-14.

[49] Wagué Helène Traoré.

Evaluation dans la population générale selon l'enquête démographique et de santé au Mali (EDSM :III 2001). Thèse Pharmacie ; Bamako ; 2003 : N°19.

[50] Yala F, Olembe C, M'Pele P, Rosenheim M.

Portage de l'AgHBs, d'anticorps anti-VIH, et de leur association chez les donneurs à Brazzaville. Bull. Soc. Pathol. Exot. 1988 ; 81 :32-39.

[51] Y. Benhamon.

Infection par le virus de l'hépatite B chez les patients infectés par le VIH. Service d'hépatogastroentérologie groupe hospitalier pitié-salpétrière (Paris), journée d'actualités en hépatogastroentérologie ; 2000.

[52] Zekeng L, Kaptuel.

Sérologie HIV-1 et portage de l'AgHBs et Hbe chez les donneurs de sang au CHU de Yaoundé, Cameroun. Ann. Soc. Belg : Med. Trop 1990; 70: 49-53.

[53] Zylberberg H., Pol S.

Reciprocal interactions between human immunodeficiency virus and hepatitis C virus infections, Clin. Infect. Dis. 1996; 23: 1117-25.