

REPUBLIQUE DU MALI
Un Peuple-Un But-Une Foi

UNIVERSITE DES SCIENCES, DES TECHNIQUES
ET DES TECHNOLOGIES DE BAMAKO



FACULTE DE PHARMACIE

ANNEE UNIVERSITAIRE 2019-2020

N°/P

THESE

**PREVALENCE DU VIRUS DE L'HEPATITE
DELTA AU CHU GABRIEL TOURE DE
BAMAKO (MALI)**

Thèse présentée et soutenue publiquement le... 2019 devant la Faculté de Pharmacie
pour obtenir le grade de DOCTEUR EN PHARMACIE (DIPLOME D'ETAT)

Par

Mlle Kadiatou dite Barro Coulibaly

JURY :

Président du jury :

Professeur Moussa Y. MAIGA

Membres :

Docteur Moussa CISSE

Docteur Samba Adama SANGARE

Co-directeur de thèse :

Docteur Almoustapha I. MAIGA

Directeur de thèse :

Professeur Daouda K. MINTA

**LISTE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTÉ
DE PHARMACIE
ANNÉE UNIVERSITAIRE : 2017-2018**

ADMINISTRATION :

Doyen : Boubacar TRAORE, Professeur

Vice-doyen : Ababacar I. MAIGA, Professeur

Secrétaire principal : Seydou COULIBALY, Administrateur Civil

Agent comptable : Famalé DIONSAN, Contrôleur des Finances.

LES PROFESSEURS HONORAIRES

M. Boubacar Sidiki	CISSE	Toxicologie
M. Mahamadou	CISSE	Biologie
M. Daouda	DIALLO	Chimie Générale et Minérale
M. Kaourou	DOUCOURE	Physiologie
M. Boukassoum	H Aidara	Législation
M. Moussa	Feu HARAMA	Chimie Organique (décédé)
M. Gaoussou	KANOUTE	Chimie Analytique
M. Alou A.	KEÏTA	Galénique
M. Mamadou	KONE	Physiologie
M. Mamadou	KOUMARE	Pharmacognosie
M. Bréhima	KOUMARE	Bactériologie et Virologie
M. Abdrahamane S.	MAÏGA	Parasitologie
M. Elimane	MARIKO	Pharmacologie

**DER : SCIENCES BIOLOGIQUES ET MEDICALES
PROFESSEURS / DIRECTEURS DE RECHERCHE**

M. Mounirou	BABY	Hématologie
M. Bakary Mamadou	CISSE	Biochimie
M. Abdoulaye	DABO	Biologie /Parasitologie
M. Alassane	DICKO	Santé Publique
M. Amagana	DOLO	Parasitologie-Mycologie
M. Boubacar	TRAORE	Parasitologie-Mycologie

MAITRES DE CONFERENCE/MAITRES DE RECHERCHE

M. Flabou	BOUGOUDOGO	Bactériologie-Virologie
M. Mahamadou	DIAKITE	Immunologie-Génétique
M. Souleymane	DIALLO	Bactériologie-Virologie
M. Abdoulaye	DJIMDE	Bactériologie-Virologie
M. Akory Ag	IKNANE	Santé Publique-Nutrition
M. Ousmane	KOITA	Biologie-Moléculaire
M. Bourèma	KOURIBA	Immunologie chef de DER
M. Ousmane	TOURE	Santé Publique/Santé Environnement

MAITRES ASSISTANTS/CHARGES DE RECHERCHE

M. Charles	ARAMA	Immunologie
M. Seydina S.A.	DIAKITE	Immunologie
M. Aldjouma	GUINDO	Hématologie
M. Ibrahima	GUINDO	Bactériologie-Virologie
M. Kassoum	KAYENTAO	Santé Publique Biostatistiques
M. Issiaka	SAGARA	Santé Publique Biostatistiques
Mme. Fanta	SANGHO	Santé Publique
M. Mahamadou Soumana	SISSOKO	Santé Publique Biostatistiques

ASSISTANTS/ATTACHES DE RECHERCHE

M. Seydou Sassou	COULIBALY	Biochimie Clinique
Mme. Djénéba	COULIBALY	Nutrition/Diététique
M. Djibril Mamadou	COULIBALY	Biochimie Clinique
Mme. Djénéba Koumba	DABITAO	Biologie Moléculaire
M. Souleymane	DAMA	Parasitologie Entomologie Méd
M. Klétigui Casimir	DEMBELE	Biochimie Clinique
M. Issa	DIARRA	Immunologie
Mme. Fatou	DIAWARA	Epidémiologie
M. Yaya	GOÏTA	Biochimie Clinique
Mme. Merepen dit Agnès	GUINDO	Immunologie
M. Oumar	GUINDO	Epidémiologie
M. Falaye	KEÏTA	Santé Publique/Santé Environ.
M. N'Deye Lallah Nina	KOITE	Nutrition
M. Birama Apho	LY	Santé Publique
M. Yacouba	MAÏGA	Biostatistiques
M. Amadou Birama	NIANGALY	Parasitologie-Mycologie
M. Dinkorma	OUOLOGUEM	Biologie Cellulaire
M. Samba Adama	SANGARE	Bactériologie
M. Oumar	SANGHO	Epidémiologie
M. Djakaridia	TRAORE	Hématologie

DER : SCIENCES PHARMACEUTIQUES

PROFESSEURS/DIRECTEURS DE RECHERCHE

M. Drissa	DIALLO	Pharmacognosie
M. Saïbou	MAÏGA	Législation
Mme. Rokia	SANOGO	Pharmacognosie Chef de DER

MAITRES DE CONFERENCE/MAITRES DE RECHERCHE
MAITRES ASSISTANTS/CHARGES DE RECHERCHE

M. Loseni	BENGALY	Pharmacie Hospitalière
M. Yaya	COULIBALY	Législation
Mme. Adiaratou	TOGOLA	Pharmacognosie

ASSISTANTS/ATTACHES DE RECHERCHE

M. Bakary Moussa	CISSE	Galénique
M. Issa	COULIBALY	Gestion
M. Balla Fatogoma	COULIBALY	Pharmacie Hospitalière
M. Seydou Lahaye	COULIBALY	Gestion Pharmaceutique
M. Antoine	DARA	Sciences Pharmaceutiques
M. Daouda Lassine	DEMBELE	Pharmacognosie
M. Adama	DENOU	Pharmacognosie
M. Sékou	DOUMBIA	Pharmacognosie
M. Mahamane	HAÏDARA	Pharmacognosie
Mme. Assitan	KALOGA	Législation
M. Hamma Boubacar	MAÏGA	Galénique
M. Ahmed	MAÏGA	Législation
Mme Aichata Ben Adam	MARIKO	Galénique
M. Aboubacar	SANGHO	Législation
M. Bourama	TRAORE	Législation
M. Karim	TRAORE	Sciences Pharmaceutiques
M. Sylvestre	TRAORE	Gestion Pharmaceutique
Mme. Aminata Tièba	TRAORE	Pharmacie Hospitalière
M. Mohamed dit Sarmoye	TRAORE	Pharmacie Hospitalière

**DER : SCIENCES DU MEDICAMENT
PROFESSEURS/DIRECTEURS DE RECHERCHE**

M. Ousmane	DOUMBIA	Pharmacie Chimique
M. Ababacar I.	MAÏGA	Toxicologie

MAITRES DE CONFERENCE/MAITRES DE RECHERCHE

M. Sékou	BAH	Pharmacologie
M. Benoît Yaranga	KOUMARE	Chimie Analytique

ASSISTANTS/ATTACHES DE RECHERCHE

M. Mahamadou	BALLO	Pharmacologie
M. Mody	CISSE	Chimie Thérapeutique
M. Dalaye Bernadette	COULIBALY	Chimie Analytique
M. Blaise	DACKOUCO	Chimie Analytique
Mme. Fatoumata	DAOU	Pharmacologie
M. Ousmane	DEMBELE	Chimie Thérapeutique
M. Abdrahamane	DIARA	Toxicologie
M. Aiguerou dit Abdoulaye	GUINDO	Pharmacologie
M. Madani	MARIKO	Chimie Analytique
M. Mohamed El Béchir	NACO	Chimie Analytique
M. Mahamadou	TANDIA	Chimie Analytique
M. Dougoutigui	TANGARA	Chimie Analytique
M. Hamadoun Abba	TOURE	Bromatologie

**DER : SCIENCES FONDAMENTALES
PROFESSEURS/DIRECTEURS DE RECHERCHE**

M. Cheick F.	TRAORE	Biologie/Entomologie
M. Mahamadou	TRAORE	Génétique

MAITRES DE CONFERENCE/MAITRES DE RECHERCHE

M. Mouctar	DIALLO	Biologie Chef de DER
M. Lassana	DOUMBIA	Chimie Appliquée

MAITRES ASSISTANTS/CHARGES DE RECHERCHES

M. DOMINIQUE PATOMO	ARAMA	Pharmacie Chimique
M. TIDIANE	DIALLO	Toxicologie

**MAITRES ASSISTANTS/CHARGES DE RECHERCHE
ASSISTANTS/ATTACHES DE RECHERCHE**

M. Seydou Simbo	DIAKITE	Chimie Organique
M. Modibo	DIALLO	Génétique
M. Abdoulaye	KANTE	Anatomie
M. Boureïma	KELLY	Physiologie Médicale
M. Moussa	KONE	Chimie Organique
M. Massiriba	KONE	Biologie Entomologie

CHARGES DE COURS (VACATAIRES)

M. Cheick Oumar	BAGAYOKO	Informatique
M. Babou	BAH	Anatomie
M. Abdourahamane	COULIBALY	Anthropologie Médicale
M. Souleymane	COULIBALY	Psychologie
M. Bouba	DIARRA	Bactériologie
M. Mamadou Lamine	DIARRA	Biologie Végétale, Botanique
M. Modibo	DIARRA	Nutrition
M. Moussa I.	DIARRA	Biophysique
M. Babacar	DIOP	Chimie
M. Atimé	DJIMDE	Bromatologie
M. Yaya	KANE	Galénique
M. Boubacar	KANTE	Galénique
M. Aboubakary	MAÏGA	Chimie Organique
M. Almoustapha Issiaka	MAÏGA	Virologie
M. Massambou	SACKO	SCMP/SIM
M. Modibo	SANGARE	Anglais
M. Sidi Boula	SISSOKO	Histologie-Embryologie
Mme. Fatoumata	SOKONA	Hygiène du Milieu
M. Fana	TANGARA	Mathématique
M. Abdel Kader	TRAORE	Pathologies Médicales
M. Boubacar	ZIBEÏROU	Physique



DEDICACES ET REMERCIEMENTS

DEDICACES

Je rends grâce :

A ALLAH soubahanatallah, le Tout Puissant

Le miséricordieux, le plus clément, louange et gloire à toi qui nous a permis de mener à bien ce travail. Qu'il nous guide sur le droit chemin et qu'il nous accorde sa grâce. Amen !

Au PROPHETE MOHAMED (PSL)

Que le salut et la paix d'Allah soit sur lui, sur sa famille, sur ses compagnons ainsi que sur tous ceux qui l'ont suivi jusqu'au jour du jugement dernier.

Je dédie humblement ce travail à :

A mes parents depuis N'goye

Chers parents, merci pour vos multiples conseils, votre accompagnement mais surtout pour toute l'affection. Qu'Allah vous accorde une vie longue et prospère pleine de bonheur.

A ma très chère tante Mme DIARRA Assitan COULIBALY et son époux, mon cher oncle Idrissa DIARRA

Les mots me manquent pour vous exprimer ma gratitude et ma profonde reconnaissance pour tous vos efforts consentis. Cela s'est passé il y'a longtemps mais je m'en rappelle comme si c'était encore hier, lorsqu'assise à côté de ma tante, mon oncle me demanda : « Barro tu veux aller à l'école ? Tu aimerais parler et entendre le français ? » Ce jour-là, vous avez changé ma vie. Dieu seul sait à quel point vous êtes importants pour moi. J'ai reçu auprès de vous les meilleures éducations qu'un enfant peut espérer de ses parents. Vous m'avez permis de réaliser l'importance des études et surtout de réaliser que j'étudiais pour moi-même. Vous avez fait de moi ce que je suis aujourd'hui. Ce travail est le fruit de votre sacrifice, de votre amour inconditionnel, de votre bonté, de votre accompagnement, mais surtout de votre soutien. Puisse Allah vous donner une longue vie, une meilleure santé pour jouir du fruit de votre dévouement. C'est aussi l'occasion pour moi de m'excuser auprès de vous, je vous prie

de me pardonner pour tout le mal que j'ai pu vous causer consciemment ou inconsciemment, pardonnez-moi s'il vous plaît...

A mes frères et sœurs, cousins et cousines

Au Dr Saleck DOUMBIA, Yorobo SIDIBE, Allaye SISSOKO, Samba SACKO, Amadou COULIBALY et frères, Assa DIARRA, Abdoulaye DIARRA, merci pour tout le soutien, ce travail est aussi le vôtre. Puisse Dieu d'avantage consolider les liens d'amour et de fraternité qui nous unissent.

A la famille TRAORE, Youssouf S TRAORE

Merci à la famille TRAORE de m'avoir acceptée comme votre belle-fille. Que le bon Dieu veille sur notre union. Je vous aime énormément...

A leur fils Youssouf S TRAORE, celui qui a su m'aimer, me supporter, en témoignage de sa gentillesse et de son affection.

Remerciements

A la famille TRAORE

A tonton Famory, tonton Hady, merci pour vos conseils, encouragement et surtout pour le soutien. Puisse ce travail m'offrir l'occasion pour vous exprimer ma profonde gratitude.

A la famille COULIBALY depuis Sébénicoro – France

Cher oncle Baboucar, de par ma voix, je te remercie au nom de tous tes enfants pour ton soutien infailible et inconditionnel, tes encouragements et conseils. Tu n'as cessé de nous inculquer les valeurs du travail bien accompli. Il est clair et évident que jusqu'à la fin des temps, nous ne pourrons jamais te récompenser pour ce que tu as fait pour nous. Que le SEIGNEUR te récompense.

A ma tante Mme COULIBALY Awa BOUARE, mon demba-diala-tigui

Merci chère tante, merci pour tes conseils, tes encouragements et surtout pour l'accueil que tu me réserves à chaque fois que je vienne à la maison. Merci pour tout ce que tu as fait pour moi tout au long de ce cycle. Je prie Dieu pour une longue vie, que je puisse longtemps profiter de tes conseils et ta sagesse.

A la famille SISSOKO

Tonton Gagny et Mme SISSOKO tante Nènè, ce travail est le fruit vos bénédictions qui n'ont jamais manqué, recevez ici toute ma reconnaissance.

Une pensée spéciale à **mon très cher Youssouf S TRAORE**, merci mon chéri d'être présent du début à la fin de mon cycle à la FAPH. Je te dédie cette thèse également en témoignage de ton affection, de ton amour, de ta patience et de ta gentillesse. Tu as apporté de la lumière dans ma vie. Saches que je t'aime profondément. QUE DIEU, le clément, le miséricordieux nous bénisse et nous accorde ce que nos cœurs désirent.

Au Dr Almoustapha I. MAIGA

Merci de m'avoir acceptée chez vous Cher Maître, merci de votre patience, vos multiples conseils à chaque rencontre, votre bonne compréhension de la vie et votre disponibilité.

A tout le personnel du laboratoire d'analyse médicale du CHU Gabriel Touré,

Un grand merci pour tout ce que j'ai appris de vous, merci pour votre bonne collaboration.

Mes remerciements particuliers à tout **le personnel du laboratoire de CVD : Dr Namory CAMARA, Idrissa COULIBALY et Ousmane DOUMBIA.**

A mes aînés et promotionnaires thésards du service du laboratoire de biologie médicale du CHU Gabriel Touré : Dr Aly KONE, Dr Rokia SANOKO, Dr Moussa Ali BARI, Amadou KODIO, Yéli DRAME, Abdou KONATE

Je ne peux vous remercier assez de l'attention que vous m'avez toujours portée et les nombreux services que vous m'avez rendus, vous m'avez activement aidée à la réalisation de ce travail. Recevez ici mes sentiments fraternels.

Au personnel de l'unité de résistance du VIH aux ARV DU SEREFO : Au Dr Oumar DOLO, Dr Josué TOGO, Dr Fatoumata Tata TRAORE, merci pour votre gentillesse et leur disponibilité.

A la promotion Professeur N'Golo Diarra, neuvième promotion du numerus clausus

Merci pour ces moments de joie, de stress, de pression et de nuits blanches passées ensemble. J'espère que les liens d'amitié tissés à la Faculté seront plus solides dans notre vie professionnelle. Que Dieu fasse de nous de très bon pharmacien pour nos parents et nos nations.

A mes camarades et amis du lycée SACRE-CŒUR : Mariam SY, Dr Nèma DEMBELE, Dr DIARRA Yasmina, Ramata DIARRA, Dr Arkietou MAIGA, Yamadou KANOUTE, Salia DRAME

Vous m'avez soutenue tout au long de mes études depuis le lycée jusqu'à la FAPH, pour certains d'entre vous, c'est depuis l'école primaire. A mes petits Yamadou et Salia, les mots me manquent pour vous remercier de m'avoir facilitée le trajet de la maison à la faculté durant toutes ces années. Tout le plaisir est pour moi de vous avoir comme amis. Merci pour vos encouragements et vos soutiens. Que ce travail soit un témoignage de ma reconnaissance.

Merci à mes maîtres du Fondamentale et du Secondaire de l'école Espérance, pour leur enseignement de base de qualité, **à tout le corps professoral de la Faculté**,

A la pharmacie Allahou Akbar : Au Dr DIABATE Cheïck Fantamady

Merci de m'avoir reçue chez vous et de m'avoir enseignée les principes du métier. A tout le personnel, recevez mon respect et ma profonde gratitude.

A Kedah MAIGA, merci de m'avoir aidée pour la correction de ce document, pour tes remarques pertinentes et tes conseils.

Ne pouvant malheureusement citer toutes les personnes que j'ai rencontrées durant mon parcours et qui ont contribué d'une façon ou d'une autre, de près ou de loin, à l'accomplissement de cette thèse, je leur dis merci pour leur soutien et apport qui ont sûrement contribué à aller au bout de ce travail.

**HOMMAGES AUX TRES HONORABLES
MEMBRES DU JURY**

A notre Maître et président du jury
Professeur Moussa Y. MAIGA

- ❖ Professeur titulaire en Hépatogastro-Entérologie à la FMOS
- ❖ Responsable des cours d'Hépatogastro-Entérologie à la FMOS
- ❖ Chef du Département de Médecine du CHU – Gabriel Touré
- ❖ Chef de service d'Hépatogastro-Entérologie du CHU – Gabriel Touré
- ❖ Praticien hospitalier au CHU – Gabriel Touré
- ❖ Président de la société malienne des maladies de l'appareil digestif (SOMMAD)
- ❖ Enseignant-Chercheur

Cher Maître,

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de présider ce jury malgré vos multiples occupations.

Clinicien et enseignant de renommé, vous êtes pour nous une véritable bibliothèque vivante.

Puisse le Seigneur vous donner santé et longévité afin que plusieurs générations d'apprenant puissent bénéficier de vos immenses connaissances

A notre Maître et juge

Dr Moussa CISSE

- ❖ Pharmacien diplômé en Immunohématologie-Transfusion à l'Université Catholique de Louvain à Bruxelles (Belgique) ;
- ❖ Diplômé du cours de Sécurité Transfusionnelle infectieuse de l'Institut Pasteur de Paris en France ;
- ❖ Ancien responsable de la Mini Banque de Sang du CHU Gabriel TOURE ;
- ❖ Ancien Responsable du Service de Conservation et Distribution des PSL au CNTS ;
- ❖ Secrétaire Administratif du Syndicat National des Pharmaciens du Mali (SYNAPHARM) ;
- ❖ Chef du Service Validation Biologique des dons et analyses payantes au CNTS de Bamako.

Cher Maître,

Votre grande disponibilité, votre simplicité, vos qualités d'homme de spécialiste en transfusion font de vous l'un des juges indispensables pour ce travail.

Votre réputation de travailleur invétéré force notre profonde admiration et nous comble de joie.

L'occasion est toute bonne pour vous adresser nos félicitations mais aussi vous remercier pour le bon voisinage.

Veillez recevoir cher maître, l'expression de notre profond respect.

A notre Maître et Co-directeur de thèse
Dr Almoustapha Issiaka MAIGA

- ❖ Responsable de l'unité d'épidémiologie moléculaire de résistance du VIH aux ARV,
Centre de Recherche du SEREFO
- ❖ Chef de Département de Biologie Médicale du CHU Gabriel Touré
- ❖ Secrétaire General de l'Association Africaine de lutte contre la Résistance aux
Antimicrobiens (AARAM)
- ❖ Membre de plusieurs sociétés savantes internationales sur le VIH dans le monde
- ❖ Enseignant vacataire à la faculté de pharmacie

Cher Maître,

Vous nous avez fait un grand honneur en nous acceptant dans votre service et en nous confiant ce travail.

Nous avons été très impressionnés par votre conviction pour la recherche, votre disponibilité et la qualité de votre enseignement.

Nous vous prions ici Cher Maître, d'accepter nos sincères remerciements.

A notre Maître et Directeur de thèse

Professeur Daouda Kassoum MINTA

- ❖ Professeur Titulaire des universités
- ❖ Agrégé de Maladies Infectieuses et Tropicales
- ❖ Directeur du centre d'excellence de lutte contre le VIH
- ❖ Chargé de cours de parasitologie et de thérapeutique à la FMOS
- ❖ Vice-président de la Société Africaine de Pathologies Infectieuses

Cher Maître,

Nous sommes très honorés par la spontanéité avec laquelle vous avez accepté de diriger cette thèse ;

Votre amour du travail bien fait ainsi vos multiples qualités humaines et sociales font de vous un Maître respecté et admiré de tous ;

Enseignant de classe exceptionnelle, vous nous avez transmis l'amour de la recherche scientifique ;

Nous sommes très fiers d'être compté parmi vos élèves ;

Veillez croire cher maître en l'expression de notre profond respect.

Table des matières

1. INTRODUCTION	29
OBJECTIFS	32
✓ Objectif général	32
✓ Objectifs spécifiques	32
2. GENERALITES	34
2.1. Virus de l'hépatite Delta	34
2.1.1. Historique	34
2.1.2. Les caractéristiques fondamentales-Classification du virus Delta	34
2.1.2.1. Structure du virus	34
2.2. L'infection par le VHD	39
2.2.1. Physiopathologie	39
2.2.1.1. Cycle de multiplication du VHD dans l'hépatocyte	39
2.2.2. Epidémiologie	41
2.2.2.1. Tropisme du virus	41
2.2.2.2. Mode de transmission	42
2.2.2.3. Répartition géographique	42
2.3. Les marqueurs biologiques de la co-infection VHB -VHD	46
2.3.1. Les marqueurs non spécifiques	46
2.3.1.1. Les transaminases	46
2.3.1.2. Taux de prothrombine	46
2.3.2. Les marqueurs spécifiques	46
2.3.2.1. Les antigènes	46

2.3.2.2.	Les Anticorps	47
2.4.	L'histoire naturelle de la maladie à VHD et les marqueurs diagnostiques.....	48
2.4.1.	Co-infection.....	48
2.4.2.	La surinfection B-Delta.....	49
2.4.3.	Les complications	50
2.5.	Le diagnostic	51
2.5.1.	Signes cliniques.....	51
2.5.2.	Le diagnostic biologique	51
2.5.2.1.	Diagnostic indirect.....	51
2.5.2.2.	Diagnostic direct.....	51
2.6.	La prévention.....	51
2.7.	Le traitement et le suivi.....	52
2.7.1.	Traitements des co-infections B-Delta	52
2.7.2.	Traitement de l'hépatite chronique Delta actuel	52
2.7.3.	Traitements futurs de l'infection au VHD	53
2.7.4.	Traitement de l'hépatite fulminante	55
3.	METHODOLOGIE.....	57
3.1.	Type et période d'étude.....	57
3.2.	Cadre de l'étude.....	57
3.2.1.	L'historique du CHU Gabriel Touré.....	57
3.2.2.	Organisation du CHU Gabriel Touré.....	57
3.2.3.	Le laboratoire d'analyses biomédicales.....	60
3.2.4.	L'hôpital Universitaire Pitié Salpêtrière (Paris).....	61
3.3.	Population d'étude	61
3.4.	Critères d'inclusion	62

3.5. Critères de non inclusion :	62
3.6. Méthodes	62
3.6.1. Le prélèvement sanguin	62
3.6.2. Préparation des DBS (dried blood spot)	62
3.6.3. Dosage sérologique	63
3.7. Echantillonnage	73
3.8. Analyses des données	73
3.9. Considération éthique	73
4. RESULTATS	75
4.1. Données sociodémographiques des 300 donneurs de sang :	75
4.2. Genre (sexe) des patients diagnostiqués positifs au VHD	82
5. COMMENTAIRES ET DISCUSSION	87
5.1. Aspects méthodologiques	87
5.2. Caractéristiques des donneurs de sang	89
6. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS	94
6.1. Conclusion	94
6.2. RECOMMANDATIONS	94

ABREVIATIONS

Ag HBs	Antigène de surface de l'Hépatite B
Ag HD	Antigène Hépatite Delta
ARN	Acide Ribonucléique Nucléique
cDNA	complementary Deoxyribonucleic Acid
CHU	Centre Hospilier Universitaire
CNR	Centre National de Référence
CNTS	Centre National de Transfusion Sanguine
DBS	Dried Blood Spot
DEPC	Diethylpyrocarbonate
ddNTP	dideoxynucleotide Tri-Phosphates
dNTP	deoxynucleotide Tri-Phosphates
DTT	Dithiothréitol
EDTA	Ethylène Diamine Tétra-Acétique
ERGIC	Endoplasmic Reticulum-Golgi Intermediate Compartment
FAPH	Faculté de Pharmacie
HSPG	Heparan Sulfate Proteoglycan
INTS	Institut National de Transfusion Sanguine
IQR	Interquartile Range
MU	Million d'Unité
NAP	Nucleic Acid Polymers
NTCP	Sodium Taurocholate Cotransporting Polypeptide
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
ORF	Open Reading Frame
QSP	Quantité Suffisante Pour
PBS	Phosphate Buffered Saline
PCR	Polymérase Chain Reaction
PSL	Produits Sanguins Labiles
RNP	Ribonucléoprotéine
RT-PCR	Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction

VHB	Virus de l'Hépatite B
VHD	Virus de l'Hépatite D
VIH	Virus de l'Immunodéficience Humaine

Liste des tableaux

Tableau I :	66
Tableau II : Mix 1 (10 µL).....	68
Tableau III : Mix 2 (10 µL).....	69
Tableau IV : Mix3 ajouté au 5 µL de cDNA	69
Tableau V : Les amorces utilisées lors de la PCR.	70
Tableau VI : Cycles lors de la RT-PCR.....	70
Tableau VII : Mix ajouté au 2 µL d'ADN purifié (PCR de séquençage).....	71
Tableau VIII : Cycles lors de la PCR de séquençage.....	72
Tableau IX : Répartition des donneurs de sang en fonction de la tranche d'âge.....	76
Tableau X : Caractéristiques des patients positifs au virus de l'hépatite Delta	81
Tableau XI : Croisement en fonction de l'âge et de la positivité du VHD obtenue dans notre étude.	83
Tableau XII : Neuf (9) souches présentant les séquences nucléotidiques les plus proches du patient 236	91

Liste des figures

Figure 1 : Le virus de l'hépatite Delta : Mise au point 40 ans après sa découverte. (Source : www.google.com).	36
Figure 2 : Domaines fonctionnels de S-AgHD et L'AgHD [10], (Source : www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3807834/).	37
Figure 3 : Les 8 géotypes du VHB et du VHD, (Source : www.google.ml).....	38
Figure 4 : Réplication intra-nucléaire, Sureau C. J. Hepatol. 2015	40
Figure 5 : Cycle de réplication du VHD, (Source : www.google.ml).....	41
Figure 6 : Séroprévalence du virus de l'hépatite D chez les sujets HBsAg positif en Afrique subsaharienne dans des études publiées entre 1995-2015, (Source : www.google.ml). ...	44
Figure 7 : Variation des marqueurs sérologiques du VHD dans le cas d'une coïnfection	49
Figure 8 : Variation des marqueurs sérologiques du VHD dans le cas d'une surinfection	50
Figure 9 : Les traitements futurs de l'infection à virus delta (Source : www.google.ml).	54
Figure 10 : L'utilisation de DBS.	63
Figure 11 : Procédure d'extraction de l'ARN par centrifugation.....	67
Figure 12 : Répartition des donneurs de sang selon le sexe.....	75
Figure 13 : Répartition de la population d'étude en fonction de la résidence des donneurs de sang de notre étude.	77
Figure 14 : Prévalence de la population en fonction du type de don.	78
Figure 15 : Prévalence de l'hépatite delta positive dans notre population d'étude.	79
Figure 16 : figure représentative du résultat des 300 patients diagnostiqués vis-à-vis du VHD, VHC, VIH et de la Syphilis.....	80
Figure 17 : Croisement entre le sexe et la positivité VHD dans la population d'étude. ..	82

Figure 18 : Migration des produits d'amplification sur gel d'agarose.....	84
Figure 19 : Arbre phylogénétique des souches de virus hépatite Delta retrouvées dans la littérature	86



INTRODUCTION

1. INTRODUCTION

L'hépatite Delta est une inflammation du foie, provoquée par un petit virus (36 nm) à acide ribonucléique (ARN) circulaire défectif qui nécessite la présence du virus de l'hépatite B (VHB) pour sa réplication et sa propagation [1]. L'infection par le virus de l'hépatite Delta (VHD) ne peut être qu'une co-infection simultanée avec le VHB ou une surinfection, entraînant ainsi une maladie plus sévère que la mono-infection par le VHB. En effet elle est responsable d'hépatites fulminantes aiguës ou d'hépatites chroniques graves pouvant évoluer rapidement vers la cirrhose et le carcinome hépatocellulaire [2]. L'interféron pégylé alfa-2a est le seul médicament efficace contre le VHD. Le diagnostic des infections à hépatites virales n'est pas systématique dans le contexte des pays à ressources limitées sauf dans le cadre de la transfusion sanguine au cours de laquelle seules les infections aux VHB et VHC sont dépistées. Or les infections hépatiques VHB et VHD ont les mêmes modes de transmission et contamination qui sont principalement parentéraux mais aussi sexuels.

Selon les estimations de l'OMS, plus de 5 % des personnes infectées par le VHB le sont aussi par celui du VHD dans le monde dont 15 à 20 millions de porteurs chroniques, avec des prévalences très variables selon les régions [3]. En 2016, l'Afrique de l'Ouest présentait une forte prévalence du VHD de 3 à 25% [4], dont 3,38% à Bobo-Dioulasso (Burkina) en 2015 [5].

L'hépatite B est fortement endémique en Afrique de l'Ouest avec une prévalence de 8%, la plus élevée au monde selon l'OMS.

Le Mali est un pays de forte endémie pour le VHB avec une prévalence d'AgHBs dans la population générale de 14,7 % et de 13,84 % chez les donneurs de sang [6].

De Janvier 2013 à Mars 2014, sur 1995 patients diagnostiqués au LABORATOIRE RODOLPHE MERIEUX pour l'AgHBs, 397 se sont révélés positifs soit une fréquence de 19,9% [7].

Selon une autre étude réalisée au CHU du Point G en 2014, une forte prévalence du VHB de 12,4% a été observée chez les patients infectés par le VIH [8] et 18,1% des donneurs de sang à Bamako en 2014 [9].

Cette forte prévalence rapportée par les études ci-dessus suggère une hypothèse de l'existence du VHD vu que les deux (2) virus ont le même mode de transmission. Cependant le Mali ne dispose pas d'information sur la co-infection VHB – VHD.

C'est au vu d'un tel constat qu'il nous a paru donc nécessaire d'évaluer la prévalence du VHD au CHU Gabriel Touré de Bamako et nos objectifs étaient :

OBJECTIFS

✓ Objectif général

Etudier la prévalence de l'infection par le virus de l'hépatite delta (VHD) chez les donneurs de sang au CHU Gabriel Touré de Bamako.

✓ Objectifs spécifiques

- Déterminer les caractéristiques sociodémographiques des patients donneurs de sang.
- Déterminer la prévalence de l'infection par le virus l'hépatite delta (VHD).
- Caractériser le profil génotypique du virus de l'hépatite delta.



GENERALITES

2. GENERALITES

2.1. Virus de l'hépatite Delta

2.1.1. Historique

Le virus de l'hépatite Delta a été découvert par le jeune gastro-entérologue de l'hôpital Molinette de Turin (Italie) le Dr MARIO RIZETTO et ses collègues en 1977 [10]. Alors qu'ils étudiaient par la technique de l'immunofluorescence directe, des biopsies de foie de patients italiens atteints de la plus grave forme d'hépatite B, ils mirent en évidence un nouvel antigène nucléaire distinct des Ag de surface (AgHBs) et de capsid (AgHBc) du VHB.

Dans un premier temps, on pensait qu'il s'agissait d'un marqueur inconnu du virus de l'hépatite B (VHB). C'est à la suite de la transmission expérimentale de l'agent infectieux au chimpanzé et la purification d'un ARN associé à cet AgHD qu'on a découvert l'antigène Delta, un nouveau virus dépendant du VHB pour sa réplication et sa propagation mais ne faisant pas parti du VHB [11].

2.1.2. Les caractéristiques fondamentales-Classification du virus Delta

Le virus de l'hépatite Delta est un petit virus à ARN monocaténaire circulaire et fermé, de polarité négative et constitué de 1672 à 1697 nucléotides en fonction du génotype [12]. Appartenant à la famille des Hepadnaviridae, il est le seul virus du genre Deltavirus. C'est un virus défectif, cela signifie qu'il a besoin de la présence d'un autre virus (le virus de l'hépatite virale B) dit « auxiliaire » lui permettant d'assurer sa réplication et sa propagation [13]. Le génome du virus delta est unique parmi les génomes viraux humains mais présentant des caractéristiques communes avec des agents infectants les végétaux, les viroïdes [12].

2.1.2.1. Structure du virus

➤ L'enveloppe virale

L'enveloppe du virus Delta est constituée d'antigène HBs emprunté à son virus auxiliaire le VHB. Elle entoure une nucléocapside qui contient l'antigène HD et l'ARN génomique. Elle confère à la particule du VHD une densité de flottation de 1,25 g/cm³ dans la solution de chlorure de césium.

➤ **Le génome viral**

Le virus de l'hépatite D est un virus de petite taille, d'un diamètre d'environ 36 nm. Son génome est un ARN monocaténaire circulaire, de polarité négative, d'environ 1700 nucléotides en longueur avec une composition G + C de l'ordre de 70% lui conférant une structure secondaire linéaire pseudo-double brin [10].

Le génome du VHD code pour une seule protéine, l'antigène delta (AgHD) qui a un rôle essentiel dans la régulation du cycle de réplication. Il coexiste deux formes (isoformes) de l'AgHD dans la cellule partageant 195 acides aminés et ne diffèrent que par le fait que la forme large (L-AgHD) a 19 acides aminés supplémentaires à son extrémité C-terminale. Il s'agit de p24 (ou petite protéine S-AgHD) dont le rôle est d'amplifier la réplication du génome et p27 (ou grande protéine L-AgHD) dont le rôle est d'inhiber la réplication du génome [14].

La structure chimérique du VHD est composée d'une ribonucléoprotéine formée de l'ARN delta associé aux deux protéines HD (p24 et p27) et de l'enveloppe du VHB contenant les protéines L-HBs, M-HBs et S-HBs de HBV. C'est un virus incomplet, c'est-à-dire qu'il est autonome pour sa réplication à l'intérieur de l'hépatocyte, mais il a besoin de l'enveloppe du virus de l'hépatite B, qui est la protéine de surface du VHB (l'AgHBs) pour l'assemblage de ses virions, et en permettre leur sortie des hépatocytes afin de réinfecter des nouveaux [15].

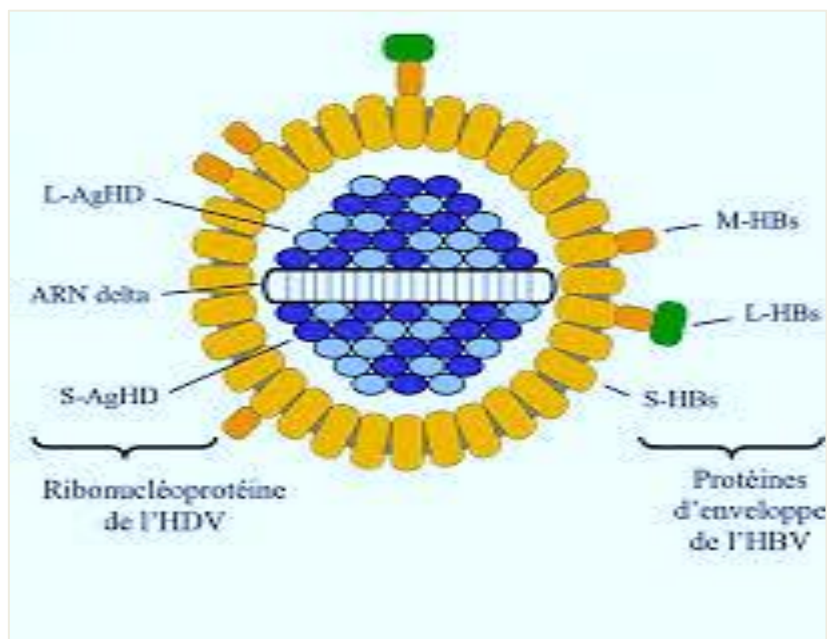


Figure 1 : Le virus de l'hépatite Delta : Mise au point 40 ans après sa découverte. (Source : www.google.com).

➤ Les protéines d'enveloppe du VHD

Les trois protéines L, M et S synthétisées dans le réticulum endoplasmique, entrent dans la composition de l'enveloppe du VHB et du VHD [15]. Elles apparaissent toutes sous formes glycosylées et non glycosylées et sont codées par un seul cadre ouvert de lecture sur le génome du VHB.

La grande protéine (L) contient donc la région pré-S1 amino-terminale (109 résidus acides aminés), la région pré-S2 centrale (55 résidus acides aminés) et la région S carboxyles-terminale (226 résidus acides aminés), alors que la protéine moyenne (M) contient les régions pré-S2 et S et que la petite protéine (S) ne contient que la région S. Seule la protéine L est myristylée à son extrémité amino-terminale. La région pré-S1 est clairement impliquée dans l'étape initiale d'attachement au récepteur viral de l'HDV puisque les virions dépourvus de la protéine L ne sont pas infectieux. Les protéines S qui vont diriger l'assemblage des particules HBV ou HDV par leur capacité à s'auto-assembler. La formation des particules de Dane nécessite donc la présence de la protéine L mais aussi de la protéine S puisque L ne peut ni former de particules ni être sécrétée en l'absence de S [10].

➤ La protéine Delta

Les deux formes p24 (S-AgHD) et p27 (L-AgHD) de la protéine delta portent l'AgHD et leurs structures primaires sont identiques à l'exception des 19 résidus acides aminés supplémentaires à l'extrémité carboxy-terminale de L-AgHD. On retrouve les deux protéines associées à l'ARN pour former des complexes ribonucléoprotéiques (RNP) dans les cellules infectées et dans la nucléocapside des virions. Elles sont phosphorylées sur des résidus sérine, non glycosylées, et assurent, dans le cycle de répllication du VHD, plusieurs fonctions que l'on peut attribuer à des domaines précis sur la séquence peptidique.

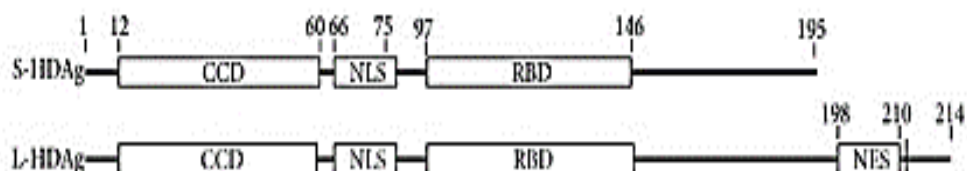


Figure 2 : Domaines fonctionnels de S-AgHD et L'AgHD [10], (Source : www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3807834/).

A l'exception des 19 acides aminés au niveau C-terminal de L-AgHD, Les antigènes delta partagent la plus grande partie de leur séquence. Dans la séquence commune, ils ont comme représenté sur la figure 2, un domaine coiled-coil (CCD), un signal de localisation nucléaire (NLS) et un domaine de liaison d'ARN (RBD). Sur le L-AgHD le signal d'exportation nucléaire (NES) et la cystéine unique, résidu 211, qui est la cible de farnésylation. Les nombres indiquent la position des résidus d'acides aminés.

2.1.2.2. Les génotypes HDV

IL existe actuellement 8 génotypes du VHD qui vont du HDV-1 à -8.

- **Le génotype 1 (VHD-1)**, responsable d'une hépatite plus sévère, il est le plus répandu dans le monde. Présent principalement en Europe, au Moyen-Orient, en Amérique du Nord, en Asie et en Afrique du Nord [16,17].
- **Le génotype 2 (VHD-2)** est généralement retrouvé en Extrême-Orient, au Japon, en Sibérie Taiwan et à la Yakoutie (Russie) [14,18].

- **Le génotype 3 (VHD-3)**, il est le plus divergent de tous les génotypes du VHD, il cause une forme sévère d'hépatite fulminante et est fréquemment retrouvé au nord de l'Amérique du sud [14,15,18].
- **Le génotype 4 (VHD-4)** est restreint au Japon et à Taiwan [14].
- **Les génotypes 5, 6, 7 et 8** sont retrouvés en Afrique subsaharienne et ont été diagnostiqués chez des migrants originaires d'Afrique subsaharienne vivant en France, contaminés dans leur pays d'origine [19].

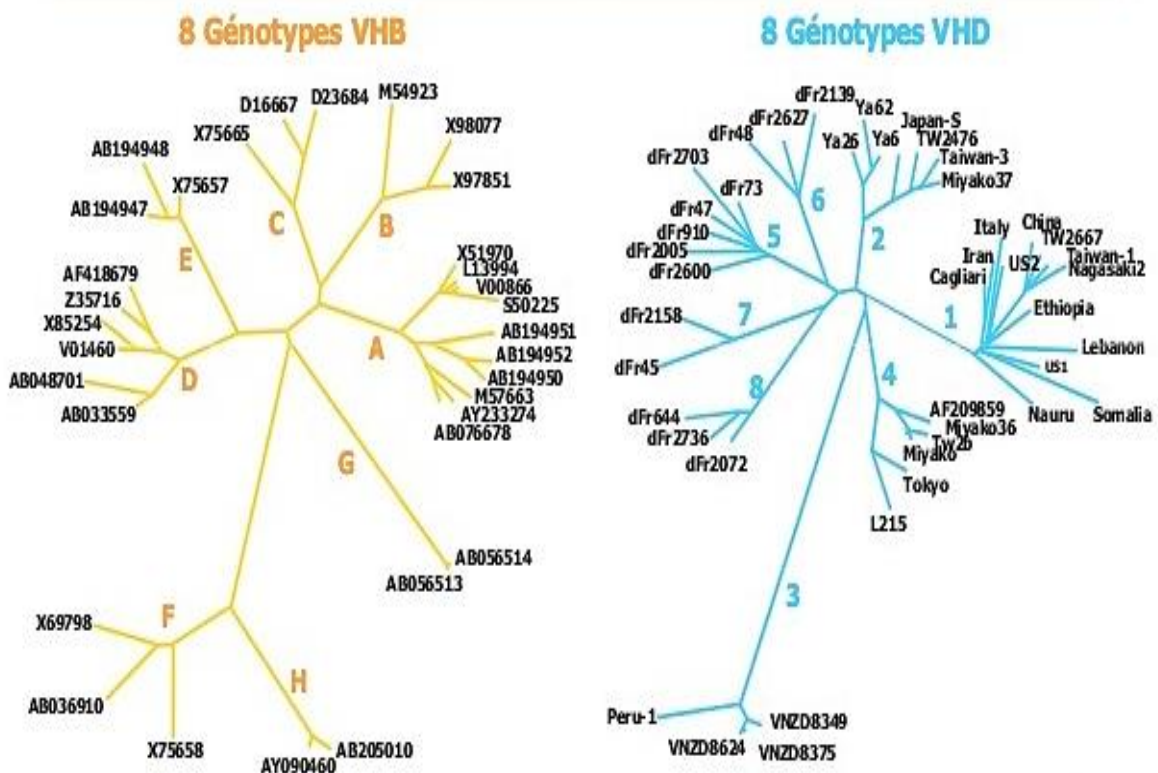


Figure 3 : Les 8 génotypes du VHB et du VHD, (Source : www.google.ml).

2.2. L'infection par le VHD

2.2.1. Physiopathologie

2.2.1.1. Cycle de multiplication du VHD dans l'hépatocyte

Le cycle de vie du VHD commence par l'adhérence et la pénétration du virion dans l'hépatocyte. Le cotransporteur polypeptidique du taurocholate de sodium (Na taurocholate cotransporting polypeptide, NTCP), ayant pour rôle physiologique le transport de sels biliaires fortement régulé par les cytokines pro-inflammatoires, présent à la surface des hépatocytes permet la liaison entre l'antigène de surface (AgHBs) via le domaine pré-S1 du L-HBsAg et les hépatocytes. Rendant ainsi possible l'entrée du virus dans les hépatocytes. L'AgHD qui comporte un signal de localisation nucléaire transporte la ribonucléoprotéine du cytoplasme vers le noyau où aura lieu la phase répliation virale. Ce transport est très important car l'enzyme utilisée pour cette répliation virale est localisée dans le noyau. L'ARN polymérase II cellulaire utilisant normalement un ADN double brin comme matrice, trompé par la structure d'ARN apparié assure la répliation de l'ARN du VHD [20].

Dans l'hépatocyte infecté, l'ARN génomique et l'ARN anti génomique sont détectés sous forme linéaire et circulaire ainsi que sous forme de multimères. La présence de ces multimères s'explique par une répliation dite «en cercle roulant» [10].

Le cycle de répliation du VHD comporte trois étapes successives qui sont : la première phase d'initiation qui est suivie de la phase de répliation, puis de celle d'amplification. Au cours de la première phase de répliation, les trois formes d'ARN sont synthétisées : l'ARN génomique, l'ARN antigénomique et l'ARN antigénomique linéaire polyadénylé correspondant à l'ARNm (ARN messenger) contenant le cadre de lecture ouvert (Open Reading Frame, ORF) codant pour l'AgHD. Après la découverte de l'implication de l'ARN polymérase II cellulaire dans la répliation virale, il est aujourd'hui connu que l'ARN polymérase I et III cellulaire sont également actives dans ce processus et leur sollicitation est dépendante du compartiment subcellulaire où se déroule la répliation [21]. Selon une étude, la synthèse de l'ARN génomique se déroulerait dans le nucléoplasme via l'ARN polymérase

Il alors que l'ARN antigénomique serait synthétisé au niveau du nucléole via l'ARN polymérase II et possiblement, l'ARN polymérase I [22].

Le modèle de répllication utilisé par le VHD est dit en « cercle roulant », véritable exception chez les virus animaux puisqu'intéressant habituellement les viroïdes infectant les végétaux. Comme pour les viroïdes, il nécessite également l'action de ribozymes (ARN pouvant catalyser une réaction chimique). Lors de la première répllication en cercle roulant, des multimères d'ARN antigénomique vont être transcrits à partir de l'ARN génomique circulaire; puis ils seront autoclivés en brins de même taille par des ribozymes viraux codés par le brin antigénomique nouvellement synthétisé [23]. Ces ribozymes avec l'aide d'une ligase cellulaire vont entraîner la recircularisation du brin néosynthétisé par jonction de ses deux extrémités. Lors de la deuxième répllication en cercle roulant, des multimères d'ARN génomique sont obtenus par transcription à partir des brins antigénomiques puis autoclivés par un deuxième ribozyme (codé par le brin génomique nouvellement synthétisé). La répllication intranucléaire est illustrée par la Figure 4 [10]. Ainsi, l'ARN génomique circulaire sera utilisé comme matrice pour la synthèse d'ARN antigénomique, pour la synthèse d'ARNm ou pour la formation de nouvelles particules virales.

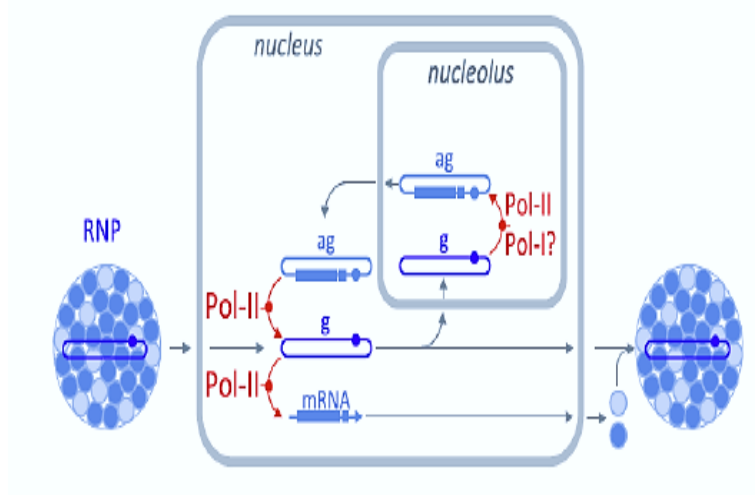


Figure 4 : Répllication intra-nucléaire, Sureau C. J. Hepatol. 2015

Enfin, les phases d'assemblage puis de bourgeonnement requièrent la présence obligatoire des protéines d'enveloppe (AgHBs) du virus de l'hépatite B. Ce sont-elles les éléments indispensables à la propagation du VHD. Les AgHBs vont venir recouvrir le matériel génétique du VHD, créant son enveloppe virale. Pour cela, les AgHBs et les AgHD vont devoir interagir entre eux au niveau d'un compartiment intermédiaire entre le réticulum endoplasmique et l'appareil de Golgi, l'ERGIC (Endoplasmic Reticulum-Golgi Intermediate Compartment). Après une réaction de farnésylation, un groupement farnésyl est ajouté sur les large-HDAg, augmentant les propriétés lipophiles et les interactions protéines/protéines permettant ainsi la liaison entre les large-HDAg du VHD et les S-HBsAg du VHB. Le virus de l'hépatite Delta est alors complet et prêt à être libéré par les hépatocytes pour rejoindre la circulation sanguine.

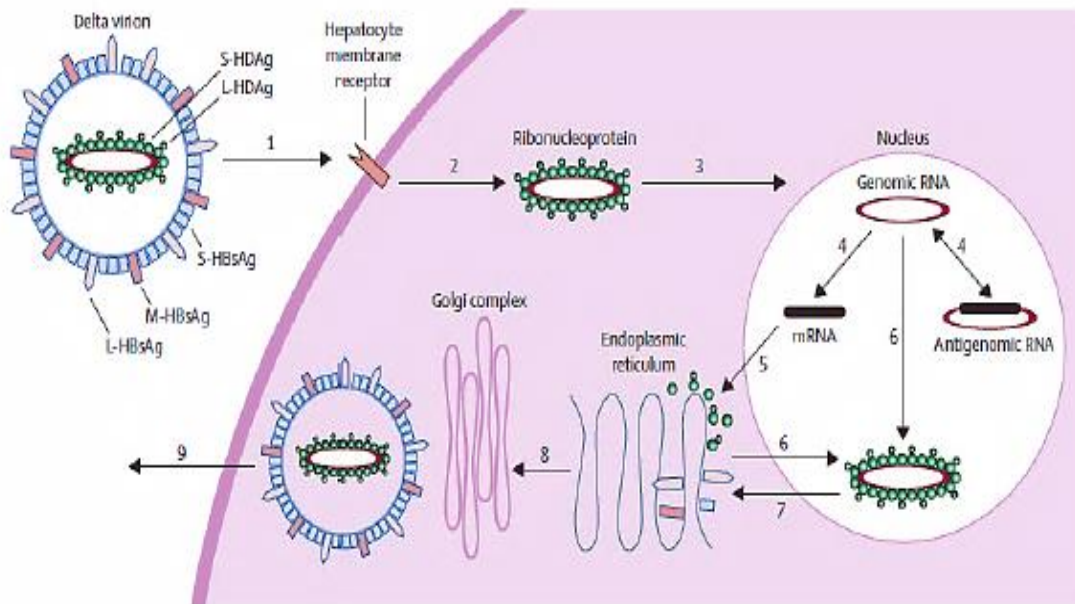


Figure 5 : Cycle de réplication du VHD, (Source : www.google.ml).

2.2.2. Epidémiologie

2.2.2.1. Tropicisme du virus

Le virus de l'hépatite Delta a un tropisme apparemment uniquement hépatocytaire.

2.2.2.2. Mode de transmission

Le VHD a les mêmes modes de transmissions que le VHB en raison de son association obligatoire avec ce dernier. Elle peut se faire par le sang d'une personne infectée mais également par contact avec d'autres liquides organiques, tels que le sperme, les sécrétions vaginales ou la salive ou rarement par la transmission de mère à l'enfant. La période d'incubation varie selon qu'il s'agisse d'une co-infection (plus longue) ou d'une surinfection.

➤ Voie parentérale

Elle est la plus fréquente dans les régions de faible endémie, et concerne les groupes à haut risque d'infection pour le VHB, en particulier les consommateurs de drogues injectables. Une étude de Baltimore démontre 50% de co-infection par le HDV chez les patients VHB qui sont des utilisateurs de drogues intraveineuses [24].

La transmission se fait également par contacts avec du sang ou des dérivés du sang, surtout liés aux pratiques médicales (hémophiles, hémodialysés, acupuncture, chirurgie et la transfusion sanguine) et à la pratique du tatouage ou du piercing.

➤ La transmission sexuelle

Tout comme l'hépatite B, l'hépatite D est une maladie sexuellement transmissible (MST). Elle est fréquente dans les régions de forte endémie et se fait par le sperme les sécrétions vaginales. Les homosexuels sont les plus exposés.

➤ Transmission mère-enfant

La transmission mère-enfant, essentiellement au moment de l'accouchement lorsque la mère est porteuse du virus de l'hépatite B.

2.2.2.3. Répartition géographique

La prévalence de l'hépatite Delta s'obtient généralement en fonction de patients porteurs d'AgHBs, marqueur d'une infection chronique par le virus hépatite B.

La prévalence de l'hépatite B était estimée à la fin des années 90 à 350 millions de porteurs chroniques dont 5% de cette population seraient infectés par le VHD, environ 15 à 20 millions, variant selon les régions [25].

Grâce notamment aux efforts réalisés sur la vaccination, on observait en 2013 une baisse de cette prévalence atteignant 248 millions de personnes AgHBs positives, soit environ 12.5 millions de patients atteints de l'hépatite delta [26]. D'après les dernières estimations de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) sur les virus hépatiques, on observe une reprise de l'épidémie, puisqu'en 2015, la prévalence était de 257 millions d'hépatite B chronique soit 3.5% de la population mondiale.

L'utilisation du vaccin à travers le monde entier depuis les années 1980 a permis chez les enfants de moins de 5 ans, un recul de l'hépatite B chronique est observé depuis le début des années 2000. En 2015, la prévalence de l'hépatite B dans ce groupe n'était plus que de 1.3% contre 4.7% à l'ère pré-vaccinale, bien qu'en Afrique, ce chiffre soit encore de 3%. Mais c'est à Taïwan que l'impact de la vaccination est le plus marquant. La diminution l'incidence de l'hépatite B chez les enfants de moins de 5 ans amène à supposer qu'à long terme, la prévalence mondiale diminuera.

Malgré le fait que l'agent delta ne peut se développer qu'en présence d'une co-infection ou d'une surinfection par le VHB, on distingue les zones de forte endémie, des zones d'endémicité intermédiaire et les zones de faible endémie.

➤ **Les zones de forte endémie**

L'agent delta est endémique dans le bassin méditerranéen, en Amérique du sud (le bassin Amazonien, Pérou, Brésil, Venezuela, Colombie), dans la région méditerranéenne (Italie du Sud), au Moyen-Orient, dans certaines îles du Pacifique, certaines régions d'Asie, en Afrique subsaharienne et centrale, en Mongolie, en Iran, en Pakistan, dans certains pays d'Europe de l'Est, au Japon, en Taïwan et dans l'Est de la Turquie [14,27–31].

• **En Afrique**

Il existe très peu de données sur la prévalence de la co-infection VHB/VHD. Cependant en 2017 certaines données épidémiologiques concernant certaines régions furent publiées à suite d'une méta-analyse effectuée sur des études de 1996 à 2015.

En Afrique de l'Ouest, la séroprévalence combinée du virus de l'hépatite D était de 7,33% dans les populations générales AgHBs positif et de 9,57% dans les populations hépatiques

[32]. En Afrique centrale, la séroprévalence était de 25 à 64% dans les populations générales et de 37 à 77% dans les populations de maladies hépatiques [32]. Le taux de prévalence est plus faible en Afrique orientale et australe, qui est de 0 à 5% dans les populations générales [32].

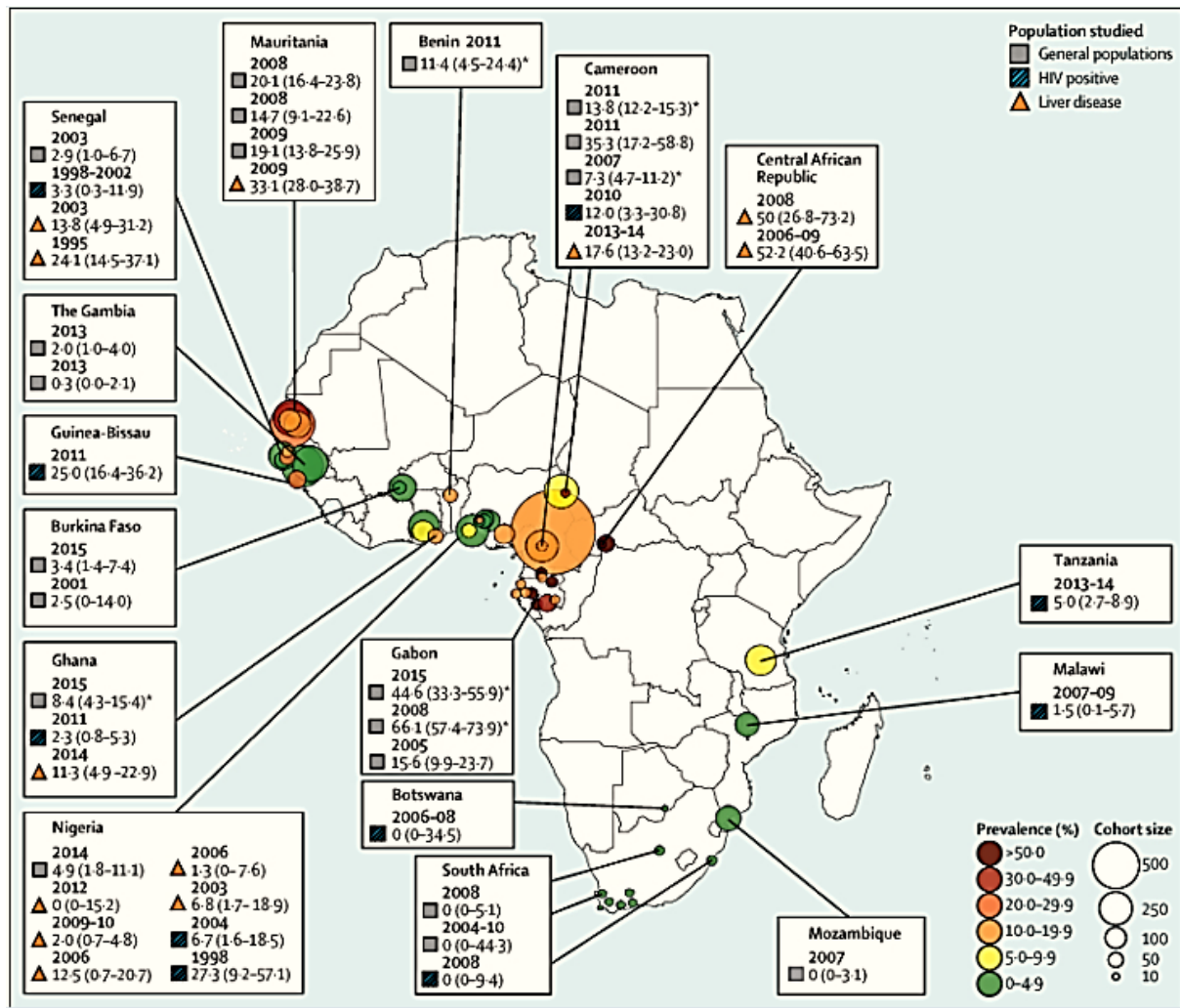


Figure 6 : Séroprévalence du virus de l'hépatite D chez les sujets HBsAg positif en Afrique subsaharienne dans des études publiées entre 1995-2015, (Source : www.google.ml).

Au Burkina, précisément à Bobo-Dioulasso, une étude transversale réalisée au centre régional de transfusion sanguine sur 177 donneurs testés, 6 soit 3,38% étaient porteurs des anticorps anti-VHD [5].

➤ **Zones d'endémicité intermédiaire**

Certaines zones sont reconnues comme étant d'endémicité intermédiaire mais des données manquent pour plusieurs régions du monde.

- **La Russie** est un pays d'endémicité intermédiaire avec un taux allant de 2 à 7%.

➤ **Zones de faible endémie**

L'infection par le virus de l'hépatite delta est beaucoup moins répandue en Amérique du nord, en Europe du nord et de l'Ouest, en Australie.

- **L'Europe**

En France, une étude réalisée chez 4492 donneurs de sang AgHBs positif par l'institut national de transfusion sanguine (INTS), menée par le Centre national de référence (CNR) des hépatites B, C, et D sur 15 années (1997-2011) confirme que la France est une zone de faible endémie pour le VHD, avec une prévalence de 1,98% [33].

Une autre étude concernant les patients infectés par le VHD en France, qui est la plus significative est celle réalisée à partir de la biothèque du CNR associé hépatite Delta, qui comporte plus de 1000 échantillons de patients répliquant le VHD collectés de façon prospective de 2001 à 2011 (étude Deltavir soutenue par l'ANRS). Des données épidémiologiques, cliniques, biologiques et virologiques ont pu être recueillies pour 1112 patients. Les premiers résultats de cette étude confirment que les patients VHD sont principalement des hommes (68,4%), originaires d'Afrique (59,5%), d'Europe de l'Ouest (18,5%), d'Europe centrale et de l'Est (13,7%), d'Asie (4,5%), du Moyen-Orient (2,9%) et d'Amérique du Sud (0,6%). L'âge médian est de 38 ans (IQR :30 ; 45). Les patients africains sont plus jeunes que les patients non africains (36 versus 42 ans, $p < 0,001$) [34].

- **L'Amérique du nord**

Aux USA, l'hépatite delta a une prévalence variant entre 3 et 8% [14,35]. En Californie du Nord, selon une revue rétrospective des dossiers, réalisée sur 1191 patients CHB, 499 avaient été testés pour HDV, avec 42 (8%) co-infectés par le VHB /VHD [35].

2.3. Les marqueurs biologiques de la co-infection VHB -VHD

2.3.1. Les marqueurs non spécifiques

2.3.1.1. Les transaminases

Les transaminases sont des enzymes intracellulaires. Il en existe 2 types qui sont l'aspartame aminotransférase (ASAT) et l'alanine aminotransférase (ALAT).

On constate une activité sérique élevée des transaminases en cas de cytolysse hépatique. Leur valeur est entre 10 et 100 fois supérieures à la normale dans les hépatites aiguës. La supériorité de l'ALAT par rapport l'ASAT est un cas habituel sans signification particulière contraire à celle de l'ASAT.

2.3.1.2. Taux de prothrombine

Ce taux est abaissé lors de l'hépatite sévère, le (TP < 50%). Un taux < 30% définit l'hépatite fulminante. La Vitesse de Sédimentation des Hématies (VSH) est élevée et le taux de lymphocytes est abaissé.

2.3.2. Les marqueurs spécifiques

2.3.2.1. Les antigènes

- **Antigène HBs** : protéine de surface du virus, il est détectable dans le sérum après 2 à 6 semaines d'infection. L'antigène HBs est positif dans la coinfection et la surinfection puis, généralement, il devient non détectable car la présence du VHD inhibe le plus souvent la réplication du VHB et l'AgHBe n'est alors plus détectable. Sa négativation étant un phénomène très rare, est le moyen le plus fiable pour garantir l'éradication du VHD.
- **Antigène HBc** : protéine de l'enveloppe interne (core) du virus, il est le témoin de la réplication virale dans le tissu hépatique d'un sujet.
- **Antigène HBe** : protéine interne au core, il est présent dans le sérum pendant une période assez courte (3 à 6 semaines) et toujours associé à la présence d'antigène HBs.

Sa détection est associée à la phase la plus contagieuse de la maladie. La persistance de l'HBe au-delà de 10 semaines doit attirer l'attention vers un passage possible à la chronicité.

Cependant, il est négatif chez les mutants pré-C, alors que l'ADN du VHB est présent.

- **Antigène D (AgHD)** : Sa présence confirme l'infection à VHD, il est exprimé à la phase précoce dans le noyau des cellules hépatocytaires, sa présence est très fugace (1 à 4 semaines) puis fait place aux anticorps anti-HD.
- **L'ADN du VHB** : son association à l'IgM anti-HBc est le signe d'une infection aiguë par l'hépatite B. Il peut être indétectable en cas de surinfection, car le VHD inhibe la réplication du VHB.
- **L'ARN viral** : dosé au cours de la co-infection mais également au cours de la surinfection, peut devenir négatif en suivant le traitement mais les rechutes sont fréquentes.

2.3.2.2. Les Anticorps

- **Anticorps anti-HBs** : sont présents dans le sang des personnes qui ont été exposées au virus de l'hépatite B, ou qui ont reçu une vaccination contre ce virus. Quand l'anticorps anti-HBs est révélé et remplace l'antigène HBs, le patient est considéré comme guéri.
- **IgM anti-HBc** : témoin d'une infection récente par le VHB, il est négatif au cours de la surinfection.
- **IgG anti-HBc** : signe d'une infection ancienne par le VHB.
- **Anticorps anti-HD** : Ils apparaissent après 2 à 5 semaines d'évolution.
- **Les IgM-anti-HD**, d'apparition récente, font place après 1 à 2 semaines aux IgG anti-HD. Leur disparition au cours d'une hépatite aiguë delta est un pronostic favorable vers la guérison.
- **IgG-anti-HD** : Présente à la phase tardive de la maladie et persiste en faible quantité après guérison.

2.4. L'histoire naturelle de la maladie à VHD et les marqueurs diagnostiques

Pour la formation de son enveloppe, le VHD emprunte les protéines d'enveloppe du VHB. On observe alors deux situations d'infections par le VHD, soit lors d'une co-infection avec le VHB (infection simultanée des deux virus), soit lors d'une surinfection par le VHD chez un patient porteur chronique de l'AgHBs.

2.4.1. Co-infection

Une co-infection par le VHD et le VHB est une infection au cours de laquelle les deux virus sont simultanément contractés par un patient. Dans un premier temps, les hépatocytes sont infectés par le VHB, sa réplication permet une à deux semaines plus tard au VHD de s'exprimer.

Cliniquement, après 2 à 6 semaines d'incubation, survient une phase d'hépatite aiguë, éventuellement ictérique. Cette phase aiguë peut évoluer de manière biphasique avec 2 pics de cytolysse hépatique, traduisant l'infection en 2 temps des hépatocytes, résultant de l'infection à VHB dans un premier temps puis de celle du VHD.

De par les symptômes, on ne peut pas faire la distinction entre une hépatite aiguë par co-infection VHB/VHD et une hépatite aiguë par le VHB seul.

Moins de 5% des co-infectés développent une VHD chronique. Dans le cas de la co-infection, le pourcentage de formes fulminantes peut être élevé allant jusqu'à 5-10% des cas avec un faible taux de passage à la chronicité (2% environ). Dans la grande majorité des cas, 60 à 80% des cas, la co-infection VHB/VHD aboutira à la guérison complète du patient.

Le diagnostic sérologique de la co-infection repose sur la présence des marqueurs du VHB : l'AgHBs et d'IgM anti-HBc de titre élevé (témoignant d'une infection récente par le VHB) et de ceux du VHD, à savoir l'AgHD qui est très fugace et des anticorps anti-HD de type IgM d'apparition précoce (2 à 5 semaines) qui sont ensuite remplacés 2 semaines plus tard par des IgG.

L'inhibition de la réplication du VHB engendrée par la survenue du VHD peut rendre l'AgHBs indétectable dans le sérum pendant quelques semaines. La figure ci-dessous fait une illustration de ces marqueurs.

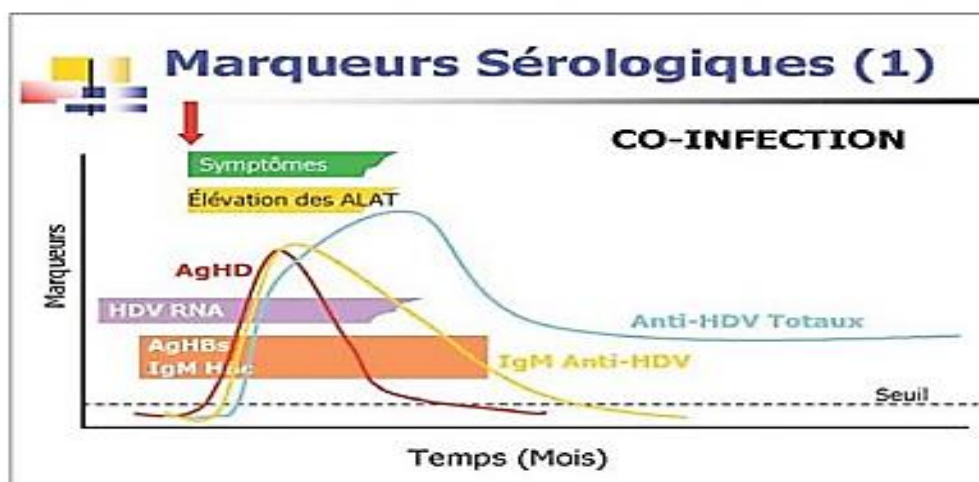


Figure 7 : Variation des marqueurs sérologiques du VHD dans le cas d'une coïnfection (Gordien et al. 2012).

La guérison de l'infection virale B se traduit par la séroconversion anti-HBs. La coexistence d'anticorps anti-delta de type IgG et des anticorps anti-HBs et anti-HBc signale la guérison de la co-infection B-Delta [36].

2.4.2. La surinfection B-Delta

Il s'agit d'une infection causée par le VHD qui survient chez un patient déjà positif à l'hépatite B chronique (AgHBs positif) et conduit dans 80% des cas à une hépatite D chronique. Du fait de la forte présence des protéines du VHB nécessaire à la formation de l'enveloppe du VHD, on observe une atteinte hépatique plus grave et d'évolution plus rapide que la co-infection, avec une évolution fréquente vers la chronicité (60 à 90% environ). Le pourcentage de formes fulminantes est plus élevé dans le cas de la surinfection delta qu'au cours des hépatites virales B aiguës. La surinfection engendre le plus souvent l'arrêt de la réplication du VHB entraînant donc l'apparition des anti-HBe, la disparition de l'Ag HBe, de

l'ADN viral B et parfois même à la disparition de l'AgHBs. A l'inverse, les marqueurs de la multiplication virale delta deviennent détectables. La persistance des IgM anti-D six mois après la contamination est prédictive de la chronicité avec une charge virale VHD détectable [36]. Voir figure 8.

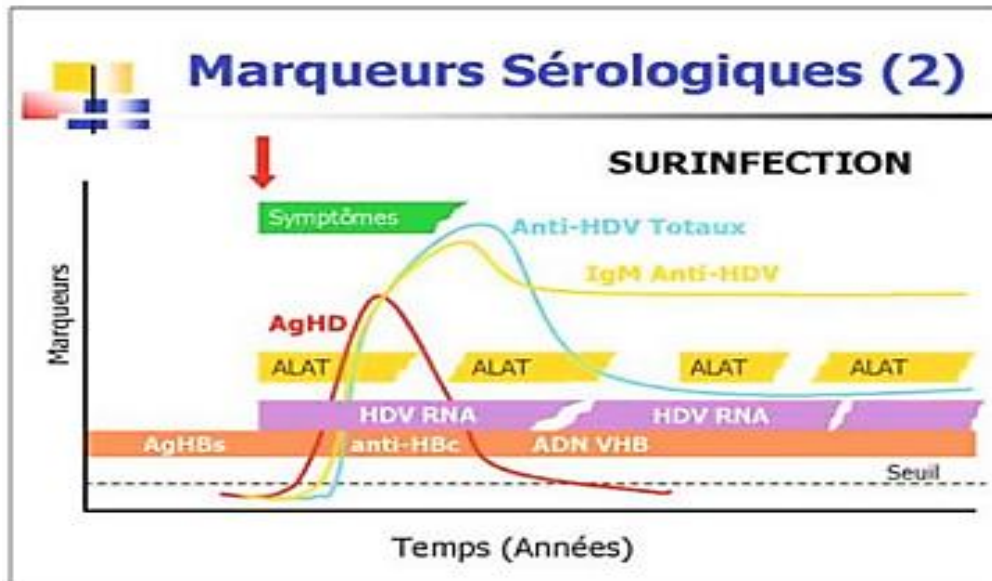


Figure 8 : Variation des marqueurs sérologiques du VHD dans le cas d'une surinfection

(Gordien et al., 2012).

2.4.3. Les complications

La double infection VHB/VHD, malgré le fait qu'elle inhibe la réplication du VHB, entraîne une évolution plus rapide de la maladie hépatique vers la cirrhose avec un risque plus élevé de décompensation hépatique et de carcinome hépatocellulaire [14,37]. Les mécanismes de cette aggravation ne sont encore très clairs, mais le VHD posséderait une pathogénicité qui lui est propre notamment via le large-HDAg. Une étude italienne, s'intéressant pendant 28 ans à près de 299 patients infectés par le VHD, rapportait chez 30% d'entre eux une évolution vers la cirrhose et chez 25% un carcinome hépatocellulaire. Le décès à la suite d'une décompensation hépatique survenait dans 60% des cas [38]. Les formes fulminantes sont 100 fois plus fréquentes.

2.5. Le diagnostic

2.5.1. Signes cliniques

L'hépatite D aigue passe généralement inaperçue, sur 1/10 des cas, on peut observer : le jaunissement de la peau et des yeux (jaunisse ou ictère), urines foncées, selles décolorées, fatigue extrême, le syndrome pseudo grippal, des nausées, des vomissements et des douleurs abdominales.

2.5.2. Le diagnostic biologique

Le diagnostic virologique de l'hépatite Delta repose sur deux types de test :

2.5.2.1. Diagnostic indirect

IL repose sur la recherche des anticorps anti-HD totaux (IgM et IgG).

La persistance des anticorps anti-HD de type IgM est évocatrice d'une infection chronique mais sachez qu'elles peuvent manquer chez certains patients africains.

2.5.2.2. Diagnostic direct

C'est la recherche surtout de l'ARN viral Delta, quantifié par PCR en temps réel et de l'AgHD qui est recherché lors de la première phase de l'infection car il est très fugace.

2.6. La prévention

Le VHD étant un virus ayant absolument besoin de la présence du VHB pour fonctionner, n'a pas de vaccin spécifique. La vaccination contre le VHB protège de l'infection à VHB et donc de façon indirecte d'une infection VHD. Mais la vaccination contre le VHB chez les personnes déjà porteuses du VHB ne permet pas de prévenir le VHD. Pour eux ça sera l'usage des objets stériles pour les hémophiles et les hémodialysés, le port permanent du préservatif lors des rapports sexuels surtout chez les homosexuels, mais également la vaccination des bébés nés de mères positives à l'AgHBs dès la naissance.

Dans le milieu hospitalier, la stérilisation adéquate ainsi que la désinfection de l'équipement médical, de l'environnement et des surfaces sont les précautions universelles adaptées pour empêcher l'exposition au sang.

Dans le cadre de la transfusion sanguine, les tests de routine tels que la détection de l'AgHBs et anti-HBc du sang collecté ont considérablement réduit le risque de transmission du VHB donc du VHD.

Le vaccin contre l'hépatite B existe depuis 1982, il prévient la contamination par le virus de l'hépatite B. Le vaccin ne guérit pas les porteurs chroniques, mais il est efficace de 90 à 95 % pour prévenir l'apparition de cet état. Le vaccin anti-VHB est aussi le premier vaccin contre un cancer et le premier vaccin contre une infection sexuellement transmissible.

Pour une vaccination complète contre l'hépatite B il faut administrer 3 doses : dont deux injections espacées d'un mois, puis une dernière fois 6 à 12 mois après la première injection [39].

2.7. Le traitement et le suivi

L'objectif du traitement de l'infection à virus Delta est d'inhiber la réplication du virus, voire l'éradiquer, afin de prévenir l'évolution vers la cirrhose et le carcinome hépatocellulaire.

2.7.1. Traitements des co-infections B-Delta

Pour la forme aiguë typique, il n'existe pas de traitement spécifique, il suffit de respecter les mesures usuelles recommandées au cours des hépatites aiguës. Le traitement ne nécessite pas forcément un repos strict ou un régime alimentaire particulier mais la corticothérapie pouvant favoriser l'évolution de l'infection delta vers la chronicité est formellement déconseillée, la prise d'alcool et des oestro-progestatifs doit également être arrêté pendant environ 3 à 6 mois.

2.7.2. Traitement de l'hépatite chronique Delta actuel

Les analogues nucléosidiques et nucléotidiques utilisés dans le traitement de l'infection au VHB ne sont pas efficaces contre le VHD.

De nos jours le seul traitement disponible contre l'infection chronique par le VHD est l'interféron pégylé alfa-2a (PEGASSY®) [40]. Selon une revue de 2013, les essais récents permettent de conclure que seulement 25% des patients maintiennent une réponse virale soutenue (VRS) après 1 an de traitement [40]. La posologie d'utilisation de cette molécule est de 9 millions d'unités (MU) 3 fois par semaine pour au moins 12 mois de traitement permettant une normalisation des transaminases, puis une négativation de la réplication delta

avec une amélioration histologique (nécrose péri portale réduite et inflammation portale et lobulaire) marquée.

L'objectif du traitement est la négativation de l'AgHBs, procurant une réponse durable. Cependant il n'y a pas un temps défini pour l'arrêt du traitement. Les cas la rechute sont fréquentes dans le cas de l'ARN indétectable du VHD.

2.7.3. Traitements futurs de l'infection au VHD

De façon général, lors de la recherche d'un traitement pour les infections virales, les premières cibles et les cibles préférées analysées sont les composants viraux, tels que les enzymes impliquées dans le cycle de réplication du virus. Mais à part le ribozyme qui assure la seule activité enzymatique du virus, le HDV n'a aucune autre fonction enzymatique spécifique à cibler.

Les étapes du cycle cellulaire mal élucidées et l'absence d'enzymes impliquées dans le cycle de réplication du virus illustrent les principales difficultés dans l'élaboration d'une cible thérapeutique spécifique du HDV.

Actuellement, plusieurs (3) molécules interagissant dans le cycle de réplication du VHD sont à l'essai. Ce sont principalement le myrcludex B, Lonafarnib et les NAPs (Nucleic Acid Polymers ; polymères d'acides nucléiques chargés négativement) [41].

- **Le Myrcludex** est un fragment acétylé de 47 acides aminés de la région pre-S1. IL empêche de façon compétitive la fixation de la protéine L-HBsAg à son récepteur NTCP (Na (sodium) taurocholate Co transporter polypeptide) bloquant ainsi l'entrée du virus dans les hépatocytes [42].
- **Le Lonafarnib** est une molécule empêchant la farnésylation ou la prénylation de l'HDAG-L. IL empêche ainsi le résidu lipophile farnésyl de se lier à la cystéine à l'extrémité C-terminale de l'HDAG-L bloquant donc l'ancrage à l'enveloppe lors de l'assemblage du virion. Il a été signalé pour diminuer la réplication HDV.

Ce traitement est actif au bout de 28 jours, mais présente de nombreux effets secondaires sous forme de diarrhées et de nausées [43]. Sa combinaison avec le ritonavir 100 mg comme booster ou la combinaison avec le PEG-alpha-2a 180

µg/semaine permet une amélioration de l'efficacité antivirale avec une diminution de la charge virale de 2 logs et des effets secondaires digestifs réduits [44].

- **Le polymère d'acide nucléique REP 2139** fait partie d'une nouvelle classe de médicaments appelée polymères amphipathiques synthétisés à partir d'oligonucléotides phosphorothioates, résistant à la digestion par les nucléases de l'hôte. Le REP 2139 inhibe surtout l'assemblage de particules virales contenant l'HBsAg et est donc de ce fait, il est actif contre les VHB et VHD. IL présente une meilleure tolérance et une efficacité supérieure par rapport au Myrcludex et au Lonafarnib. Les premiers résultats d'une étude démontrent que l'association du REP 2139 avec l'interféron pégylé alfa-2a pouvait contrôler la co-infection VHB/VHD et réduire l'atteinte hépatique [45]. Des résultats prometteurs sont attendus à la fin de cette étude.

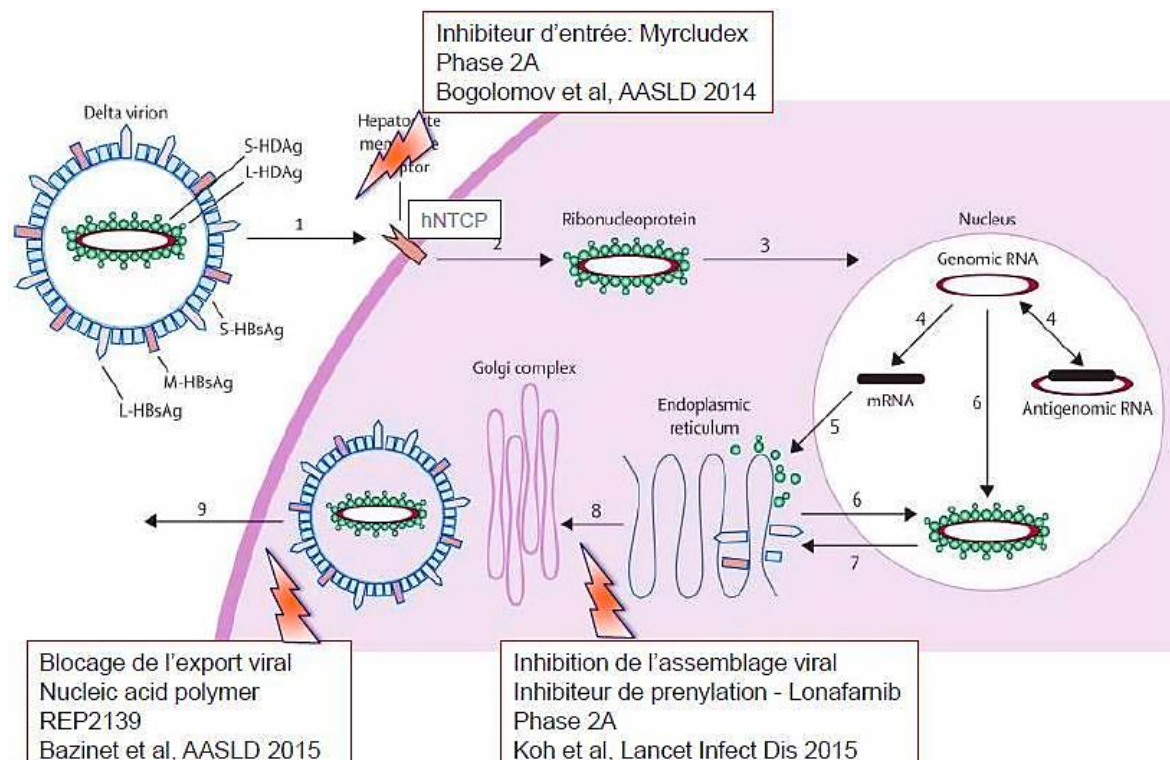


Figure 9 : Les traitements futurs de l'infection à virus delta (Source : www.google.ml).

2.7.4. Traitement de l'hépatite fulminante

Le traitement de l'hépatite fulminante liée au VHD est la transplantation hépatique en urgence dès qu'apparaissent une encéphalopathie hépatique ou une insuffisance hépatique biologique définie par un taux de prothrombine inférieur à 30 %. Dans ce cas, la réinfection après transplantation intervient moins souvent que dans le cas d'une infection par le VHB seul.



METHODOLOGIE

3. METHODOLOGIE

3.1. Type et période d'étude

Nous avons effectué une étude transversale prospective descriptive qui s'est déroulée d'octobre à décembre 2014 chez les donneurs de sang, soit une période de trois mois.

3.2. Cadre de l'étude

Notre étude s'est déroulée à Bamako (Mali). La mini banque de sang du Centre Hospitalo-Universitaire (CHU) Gabriel Touré a servi de cadre pour la collecte de nos échantillons qui furent ensuite envoyés à l'hôpital Pitié-Salpêtrière (France) pour les analyses moléculaires par Polymerase Chain Reaction (PCR).

3.2.1. L'historique du CHU Gabriel Touré

L'ancien dispensaire central de Bamako a été créé en 1951 et érigé en hôpital le 17 janvier 1959. Il sera baptisé « Hôpital Gabriel Touré » en hommage au sacrifice d'un jeune étudiant en médecine originaire du Soudan français (actuel Mali) mort lors d'une épidémie de peste, maladie qu'il contracta au cours de son stage en 1934.

L'Hôpital Gabriel Touré a évolué en Établissement public à caractère administratif (EPA) en 1992, doté de la personnalité morale et de l'autonomie de gestion.

L'Hôpital Gabriel Touré était l'un des quatre établissements publics (hôpitaux nationaux) à caractère administratif (EPA) institués, par la loi n°92-024 AN-RM du 05 octobre 1992 ; avant de devenir un Etablissement Public Hospitalier (EPH) par la loi n°03-022 AN-RM du 14 juillet 2003.

Il est situé en plein centre-ville de Bamako aux abords des rails dans la commune III du district de Bamako, entre l'École Nationale des Ingénieurs (ENI) ou École Abdramane Baba Touré, entre l'état-major des armées d'un côté vers le quartier Médina Coura.

3.2.2. Organisation du CHU Gabriel Touré

L'hôpital du CHU Gabriel Touré est organisé en onze (11) départements comprenant cinquante (50) services qui sont :

Département administratif et financier :

- Le service d'audit et contrôle de gestion ;
- Le service des ressources humaines ;
- Le service de comptabilité finance ;
- Le service juridique et du contentieux ;
- Le service social ;
- Le service d'accueil, d'orientation et de communication ;
- Le service de la logistique ;
- Le service funèbre.

Département d'Anesthésie-Réanimation et des d'urgences médicaux chirurgicales :

- Services d'Anesthésie ;
- Service des urgences ;
- Service de réanimation et soins intensifs ;
- Service de bloc opératoire ;
- Service de régulation des urgences.

Département de biologie médicale :

- Service d'anatomie pathologie et de cytologie ;
- Service de laboratoire d'analyses biomédicales ;
- Service de transmission sanguine.

Département de chirurgie et de spécialités chirurgicales :

- Service de chirurgie générale ;
- Service de chirurgie viscérale ;
- Service de chirurgie traumatologique et orthopédique ;
- Service d'urologie ;
- Service de neurochirurgie ;
- Service d'otorhinolaryngologie et chirurgie cervico-faciale ;
- Service de chirurgie pédiatrique.

Département de Gynécologie-Obstétrique :

- Services de Gynécologie,
- Service d'obstétrique.

Département de Médecine et spécialités médicales :

- Service de cardiologie ;
- Service d'hépatogastroentérologie ;
- Service de neurologie ;
- Service d'endocrinologie et des maladies métaboliques ;
- Service de dermatologie-vénérologie ;
- Service de médecine physique et rééducation fonctionnelle ;
- Service d'endoscopie
- L'unité de consultations externes de médecine générale.

Département médicotechnique :

- Service d'imagerie médicale ;
- Service d'exploration fonctionnelle ;
- Service de médecine nucléaire ;
- Service de radiothérapie.

Département de pédiatrie :

- Service de pédiatrie générale ;
- Service de néonatalogie ;
- Service des urgences pédiatriques.

Département de pharmacie :

- Service de pharmacie hospitalière ;
- Service de stérilisation ;
- Services d'Hygiène ;
- Service Contrôle et Prévention des Infections.

Département de Santé Publique :

- Service d'Information Hospitalier ;
- Service d'Informatique Médicale et Télémédecine ;
- Service Formation et Recherche ;
- Service de Bibliothèque, Documents et Archivages ;

Département et Maintenance :

- Service de Maintenance Biomédicale ;
- Service d'Electricité et d'Eclairage ;
- Service de Plomberie et Adduction d'Eau ;
- Service Froid et Climatisation.

3.2.3. Le laboratoire d'analyses biomédicales

L'ancienne pharmacie de l'hôpital a été réaménagée en laboratoire de biologie biomédicale lui-même faisant partie du Département de Biologie médicale.

Il comprend :

- Deux (2) grandes salles de travail pour l'hématologie et la biochimie
- Une (1) salle de prélèvement et de parasitologie
- Une (1) salle de stérilisation
- Une (1) salle de garde avec toilette
- Un (1) bureau de chef de service
- Une (1) salle de quantification de charge virale pour les patients VIH positifs

Trois salles aménagées récemment pour les activités de bactériologie équipées en matériels de bactériologie (3 automates d'hémoculture BACTEC® 9050, 2 hôtes, des congélateurs, des réfrigérateurs, des microordinateurs avec une communication sur Internet).

3.2.3.1. La Mini banque de sang

Faisant partie du service de laboratoire d'analyses médicales, il s'agit d'un conteneur tri-compartmenté composé :

- D'une (1) salle pour l'accueil et la sélection des donneurs de sang ;
- D'une (1) salle de prélèvement pour les donneurs de sang, qui est également la salle de dispensation des produits sanguins labiles ;
- D'une (1) salle pour la conservation des produits sanguins labiles (PSL).

Le CNTS assure l'approvisionnement de la Mini Banque de Sang en des produits sanguins labiles (PSL) et les poches collectées sont envoyées au CNTS pour la qualification biologique.

3.2.3.2. Le personnel est constitué de :

- Deux (2) biologistes
- Une (1) infirmière
- Deux (2) techniciens de laboratoire

3.2.4. L'hôpital Universitaire Pitié Salpêtrière (Paris)

L'hôpital de la Pitié-Salpêtrière situé sur le 47 boulevard de l'Hôpital - 50-52 boulevard Vincent Auriol - 75013 Paris, est le plus grand des hôpitaux français par sa superficie. Au sein de ses 90 bâtiments répartis sur 33 hectares, sont présents 77 services regroupés en 10 pôles, dont les urgences. Toutes les pathologies et sont traitées, à quelques exceptions près. Les origines de la Pitié-Salpêtrière remontent au XVII^e siècle et son histoire est dit au roi Louis XIV et au cardinal de Richelieu. De nombreux éléments sont classés ou inscrits au titre des monuments historiques. L'union de ses joyaux est la chapelle Saint Louis, publiée à la demande de Louis XIV.

- Le service de Virologie de l'hôpital de la Pitié-Salpêtrière nous a servi de cadre pour notre étude.

3.3. Population d'étude

La population d'étude était composée au total de 300 donneurs de sang volontaires et des donneurs de compensation positifs à l'AgHBs.

3.4. Critères d'inclusion

Etaient inclus dans notre étude tous les donneurs dont l'AgHBs était positif par des tests de Diagnostic Rapide (TDR), âgés d'au moins 18 ans, pesant plus de 55 kg et 60 ans au plus sans distinction entre les professions ou les catégories sociales, avec toutes religions confondues.

3.5. Critères de non inclusion :

Les donneurs séronégatifs à l'AgHBs ont été exclus de cette étude ainsi que toutes personnes ne répondant pas aux critères de don de sang.

3.6. Méthodes

3.6.1. Le prélèvement sanguin

Après avoir obtenu le consentement éclairé de chacun des patients, nous avons procédé aux prélèvements veineux sur des tubes EDTA. Au total 300 échantillons des patients AgHBs positifs ont été retenus pour notre étude et conservés à -20°C.

3.6.2. Préparation des DBS (dried blood spot)

Pour la préparation des DBS, 250 µL (5 spots de 50 µL) de plasma ont été déposés sur papier buvard absorbant (prédécoupé et cerclé de type papier buvard Munktel TFN ; Lasec SA PTY) au CHU Gabriel TOURE de Bamako. Ce type de buvard permet d'éliminer les contaminations croisées liées à la découpe des buvards avec des ciseaux contaminés par le prélèvement précédent. Les cartes DBS sont ensuite séchées à température ambiante pendant 18 heures.

Une fois arrivés au laboratoire de virologie de l'hôpital Pitié-Salpêtrière, les disques prédécoupés ont été détachés et placés au fond d'un tube Eppendorff de 2 ml puis mis en solution avec 1 ml de PBS (Phosphate Buffered Saline). Le PBS sert de tampon d'élution et permet d'extraire les analytes des buvards après incubation à température ambiante pendant une nuit sous agitation continue. Les échantillons extraits des DBS sont ensuite traités comme des échantillons de plasma et analysés par des méthodes classiques destinées au plasma ou au sérum. Les DBS sont ensuite conservés à -20°C dans une pochette hermétique contenant un sachet dessinant.

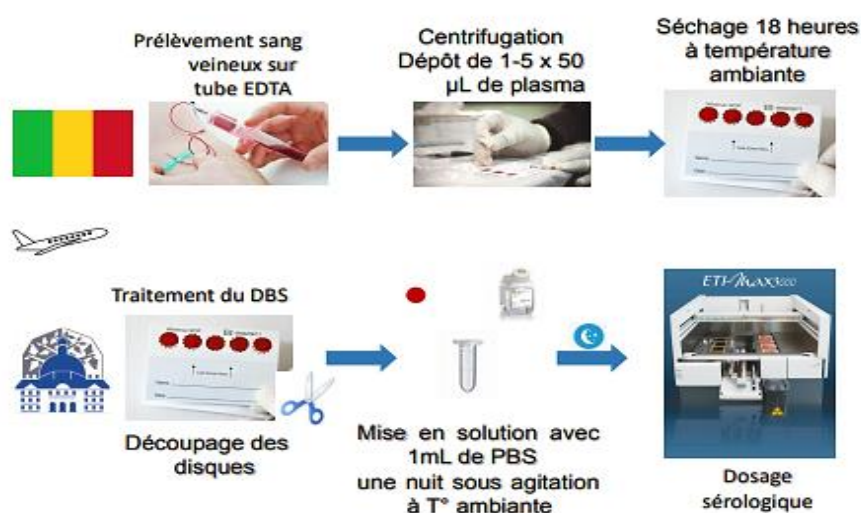


Figure 10 : L'utilisation de DBS.

3.6.3. Dosage sérologique

Les différents échantillons ont fait l'objet de diagnostic du VHB, du VHC, du VIH, de la Syphilis ainsi que du VHD. Le diagnostic a été effectué par la technique Elisa en utilisant des kits appropriés.

Les sérologies hépatite Delta ont été réalisées par technique immun-enzymatique de type Elisa indirect sur ETI-Max 3000 DiaSorin®. La détection d'anticorps anti-VHD totaux par la technique Elisa constitue la méthode de référence lorsqu'elle est pratiquée sur du sérum de patient.

➤ **Techniques de dépistage des anticorps anti - VIH :**

Le test utilisé est le Genscreen® ULTRA HIV Ag-Ab au laboratoire de virologie de l'hôpital Pitié-Salpêtrière France. Il se présente sous forme de trousse contenant une ou 5 plaques de 96 puits. C'est une technique immuno-enzymatique basée sur le principe de sandwich pour la détection de l'antigène HIV et des différents anticorps associés aux virus VIH1 ou VIH2 dans le sérum ou le plasma. Il n'y a pas eu de résultat positif.

➤ **Technique de dépistage de l'antigène HBs :**

Le test utilisé est le Monolisa® Ag HBs ULTRA qui se présente sous forme de Kit contenant une plaque de 96 puits. C'est une technique immuno-enzymatique basée sur le principe de sandwich en un temps utilisant 3 anticorps monoclonaux sélectionnés pour leur capacité à se lier aux différents sous types de l'AgHBs.

➤ **Technique de dépistage des anticorps anti - VHC :**

Le test utilisé est le Monolisa® Anti HCV plus version 2. Il se présente sous forme de Kit contenant une plaque de 96 puits.

C'est une technique immuno-enzymatique pour la détermination qualitative des capsides d'antigènes et des anticorps dirigés contre le virus VHC dans le sérum ou le plasma humain.

➤ **Technique de dépistage de la Syphilis**

TEST ELISA

Test de dépistage systématiquement réalisé au laboratoire si une recherche de syphilis est demandée.

En cas de positivité, un VDRL (Venereal Disease Research Laboratory) et un TPHA (Treponema Pallidum Haemagglutination Assay) seront réalisés.

• **VDRL**

Ce test d'agglutination détecte les anticorps anti-phospholipides du tréponème. Il est très sensible mais peu spécifique : il existe des réactions croisées avec les anticorps anticardiolipines (qui signent une maladie de système tel le lupus). Il est également faussement positif lors d'infections virales, après certains vaccins, dans le lupus, les connectivites, le myélome, la maladie de Waldenstrom. Par contre, paradoxalement, il peut être faussement négatif s'il y a une concentration d'anticorps trop élevée qui, en saturant les sites antigéniques du réactif, empêche l'agglutination : c'est le phénomène de zone. Dans ce cas, la dilution permettra de mettre en évidence la forte positivité du test. Il se négative après traitement et sert de marqueur pour suivre l'efficacité du traitement : le taux d'AC diminue de 4 x en 6 mois).

- **TPHA**

Egalement test d'agglutination, il détecte les anticorps spécifiques anti-tréponème. Des faux positifs sont aussi possibles en cas de lèpre, maladies auto-immunes ou autres tréponèmes non vénériens. Il reste positif après traitement. Il diminue progressivement (plusieurs années) mais ne se négative jamais.

- **Moyen diagnostic du virus de l'hépatite Delta - le séquençage**

- **Validation de la technique sur l'extraits de buvard**

Pour valider la technique sur extraits de buvard, les échantillons datant de moins de 2 ans de 65 patients AgHBs positif et pris en charge à l'Hôpital Pitié-Salpêtrière ont été choisis : 39 patients avaient présenté une sérologie positive, et 26 avaient une sérologie négative. Le sérum des patients a été déposé sur papier buvard, séché puis extrait avec 1 ml de PBS en suivant le même protocole que précédemment. Les résultats sont présentés dans le tableau I.

Tableau I : résultats des 65 échantillons datant de moins de 2 ans.

	Positif (Technique de référence)	Négatif (Technique de référence)
Positif (DBS)	VP = 32	FP = 0
Négatif (DBS)	FN = 7	VN = 26

La sensibilité de la technique sur DBS est de 82.1%, la spécificité et la VPP (Valeur Prédictive Positive) de 100% et la VPN (Valeur Prédictive Négative) de 78.8%. Avec une sensibilité supérieure à 80%, la réalisation de sérologie sur DBS s'inscrit parfaitement dans une démarche de diagnostic et de dépistage même si le risque de ne pas détecter tous les patients séropositifs (faux négatif) existe.

• Extraction de l'ARN du VHD

L'extraction de l'ARN viral s'effectue par une technique manuelle sur le kit QIAamp® Viral RNA Mini avec une prise d'essai d'échantillon de 140 µL (Figure 11). Après une étape de lyse et sous l'effet de la centrifugation, les acides nucléiques sont capturés sur une membrane contenant des particules de silice. La membrane subit ensuite deux étapes de lavage avec des solutions tamponnées spécifiques. Enfin, l'ARN purifié (exempt de protéines, de ribonucléases, de contaminants ou d'inhibiteurs) est élué par un tampon spécial et prêt pour une utilisation directe ou une conservation à -80°C.

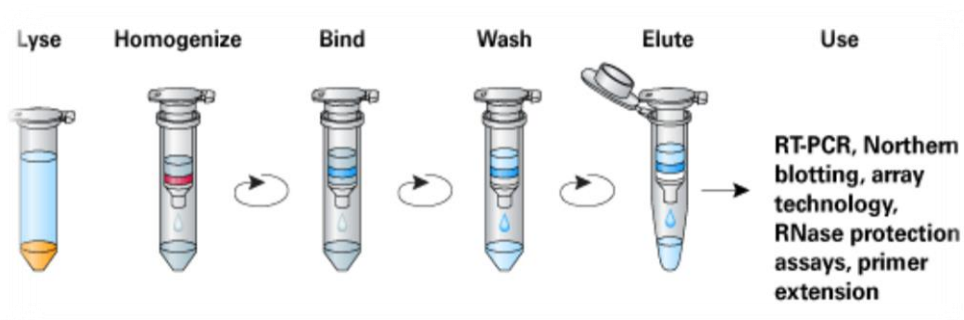


Figure 11 : Procédure d'extraction de l'ARN par centrifugation

• Rétrotranscription et Amplification

La RT-PCR (Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction pour Transcription Inverse et Réaction en chaîne par polymérisation) a été réalisée au sein du CNR Hépatite Delta (Centre National de Référence) de l'Hôpital Avicenne par des techniques maison. La première étape consiste à synthétiser un brin d'ADN complémentaire (cDNA) à l'ARN du VHD, par transcription inverse puis à amplifier une région cible du cDNA. La transcription nécessite la présence d'amorces désoxyribonucléotidiques qui vont s'hybrider au hasard (RandomHexamers de chez Invitrogen®) sur l'ARN delta et d'une enzyme, la transcriptase inverse Superscript II (Reverse Transcriptase).

Les 10 µL de mix 1 (Tableau II) sont ajoutés aux 5 µL d'extrait d'ARN, puis vortexés et centrifugés. Ensuite le mélange est placé dans un thermocycleur à 100°C pendant 5 minutes pour désappairer les ARN puis, à la fin de ce cycle, placé immédiatement dans un bloc froid issu du -20°C afin de figer les ARN dénaturés en position linéaire. Cette étape, qui diffère des protocoles classiques, est nécessaire chez ce virus riche en liaisons G-C entraînant plus de 70% d'auto-appariement qui sont autant d'obstacles au bon déroulement de la rétrotranscription.

Tableau II : Mix 1 (10 µL) ajouté aux 5 µL d'extrait d'ARN

REACTIFS	Volume en µL /échantillon
dNTP mix (0.5 mM)	5
Amorce Random Hexamer (0.4 pM)	1
Eau DEPC qsp 10 µL	4
Total	10

Au 15 µL du mélange précédent sont ajoutés, sans le sortir du bloc froid, 10 µL de mix 2 (Tableau III) puis le tout est placé dans le thermocycleur pour que commence la

rétrotranscription de l'ARN en ADN complémentaire. Cette étape se compose d'une première phase d'incubation pendant 45 minutes à 42°C suivie d'une phase de dénaturation pendant 5 minutes à 94°C et enfin d'une phase de conservation des produits de PCR à 4°C.

Tableau III : Mix 2 (10 µL)

REACTIFS	Volume en µL/échantillon
DTT (10mM)	2.5
Eau DEPC 10 µL	1.385
Enzyme RT Superscript II (100 U/µL)	0.5
RNase inhibitor (1 U/µL)	0.615
MIX RT Buffer 5X	5
Total	10

L'amplification de l'ADN proprement dite commence après ajout de 5 µL d'ADN Complémentaire dans 75 µL de mix 3 (Tableau IV), se compose d'une phase de dénaturation de 10 minutes à 95°C puis de 45 cycles d'une minute 45 secondes chacun (30 secondes à 95°C, 30 secondes à 62°C et de 45 secondes à 72°C), enfin d'une phase d'élongation finale de 7 minutes à 72°C. Les amorces Casey et 920s sont spécifiques de la région R0 (Tableau V).

Tableau IV : Mix3 ajouté au 5 µL de cDNA

REACTIFS	Volume en µL/échantillon
Eau stérile qsp 75µL	52.3
dNTP mix (200 µM)	5.4
Amorce Casey (0.25 pmol/µL)	2
Amorce 920s (0.25 pmol/µL)	2

MgCl ₂ (1.5 mM)	4.8
Tampon 10X	8
Taq Gold	0.5
Total	75

Tableau V : Les amorces utilisées lors de la PCR.

Amorce Casey (anti-sens)	5'-3'	5'- GAA GGA AGG CCC TCG AGA ACA AGA- 3'
Amorce 920s (sens)	5'-3'	5'- CAT GCC GAC CCG AAG AGG AAA G - 3'

Les étapes d'amplification sont résumées dans le Tableau VI.

Tableau VI : Cycles lors de la RT-PCR

CYCLES	CYCLES Températures
1 Dénaturation	100° C : 5'
1 RT	42° C : 45'
1 Dénaturation	94° C : 5'
Cycle d'amplification (45 cycles)	95° C : 30''
	62° C : 30''
	72° C : 45''
Elongation Final	72° C : 7'
Maintien des produits de PCR	4° C : ∞

Sur le produit de la première PCR, une deuxième amplification peut être effectuée pour augmenter la sensibilité de la méthode : il s'agit de la PCR nichée (« nested PCR ») qui

utilise, dans notre technique, le même couple d'amorces et le même protocole que précédemment. Cette étape, non obligatoire, a été ajoutée pour prévenir une éventuelle perte de sensibilité provoquée par l'utilisation d'un support DBS. Après migration, les produits de PCR sont révélés sur gel d'agarose afin de vérifier la technique et de sélectionner les produits de PCR à séquencer.

- **Séquençage**

Les produits de PCR sont ensuite purifiés à l'aide d'un kit PCR Cleanup Celera® contenant un mélange d'enzymes permettant la dégradation des résidus d'amorces et de dNTP après une heure sur thermocycleur (30 minutes à 37°C, 15 minutes à 80°C, 10 minutes à 4°C puis maintien à 10°C).

Les produits de PCR purifiés subissent une réaction de séquençage, c'est-à-dire l'introduction de didésoxyribonucléotides (dd-NTP) fluorescents, interrupteurs de chaîne, permettant l'arrêt de l'élongation.

Les amorces utilisées lors de la réaction de séquençage sont identiques à celles utilisées lors de la PCR nichée. Chaque échantillon est séquencé dans les deux sens pour augmenter la qualité de la technique. L'ADN purifié (2 µL) est ajouté à 18 µL de mix (Tableau VII) et 25 cycles de PCR se déroulent comme présenté dans le Tableau VIII.

Tableau VII : Mix ajouté au 2 µL d'ADN purifié (PCR de séquençage)

REACTIFS	Volume en µL/échantillon
Eau ppi	8,5
Tampon 5X	4
BigDye v3.1	2
Amorce (1.75 pmol/µL)	3,5
Total	75

Tableau VIII : Cycles lors de la PCR de séquençage

CYCLES	Températures
25 cycles	96°C : 10''
	50°C : 5''
	60°C : 4'
Maintien des produits de PCR	4°C : ∞

Une fois la réaction de séquençage terminée, les produits de cette réaction sont purifiés sur résine Sephadex® G50 réhydratée en plaque 96 puits MultiScreen HV. Cette étape a pour but d'éliminer par gel-filtration les nucléotides non incorporés et les amorces de PCR en excès. La limite d'exclusion de la résine G50 est d'environ 20 bases. Les produits de séquences filtrés sont récupérés sur une plaque microAmp™ 96 puits. Le contenu de cette plaque est analysé par le séquenceur capillaire automatique ABI PRISM 3130 (AppliedBioSystem). Le principe de cet appareil est celui de la méthode de Sanger. Un séquenceur de gènes capillaire utilise des tubes capillaires de verre de seulement quelques microns de diamètre, sur plusieurs dizaines de centimètres de longueur, pour réaliser l'électrophorèse. Les quatre bases azotées du brin d'ADN séquencé passent dans le tube capillaire et sont marquées de quatre marqueurs fluorescents différents pour les caractériser. La migration des brins dans les capillaires se fait en fonction de leurs longueurs, et les signaux sortant de l'appareil sont ensuite analysés par un logiciel et rendus sous forme de chromatogrammes (pics de fluorescence).

Le logiciel Seqscape a été utilisé pour l'analyse des chromatogrammes. Il permet de mettre en évidence une amplification et d'évaluer le nombre de nucléotides amplifiés, détecter d'éventuelles doubles populations ainsi qu'éliminer les artéfacts et le bruit de fond ; enfin un premier alignement des séquences de la région RO par rapport à une séquence de référence a été réalisé. Les séquences sont ensuite analysées et alignées définitivement à l'aide du logiciel ClustalX [46], les variations de nucléotides permettant de définir les différents génotypes. La région R0 a été choisie pour le séquençage car codant pour les protéines virales, c'est elle qui présente le moins de variabilité. Ensuite, l'analyse phylogénique est réalisée grâce au logiciel

DNADist, qui calcule un score en fonction de la similitude des séquences trouvées par rapport aux séquences de référence, puis au logiciel Neighbors, qui va comparer ces scores et pouvoir générer, avec le programme OutTree, un arbre phylogénétique.

3.7. Echantillonnage

La taille de l'échantillon de notre étude est fixée à 300 patients AgHBs positifs recrutés de façon consécutive.

3.8. Analyses des données

Nos données ont été saisies sur Excel 2013 et analysées sur EPI info7 et le traitement du texte a été effectué sur Word 2016.

3.9. Considération éthique

Cette étude a été effectuée en respectant les règles de bonnes pratiques de laboratoire. L'anonymat et la confidentialité des patients ont été respectés conformément aux règles d'éthique médicale et à la législation sur la recherche biomédicale et scientifique. Il n'y avait pas de conflit d'intérêt dans cette étude.



RESULTATS

4. RESULTATS

Au CHU Gabriel Touré 300 patients testés AgHBs positifs âgés de 18 à 60 ans ont fait l'objet de notre étude. Les sérologies hépatite Delta des 300 patients ont été obtenues par technique immuno-enzymatique (ETI-Max 3000 DiaSorin®) en réalisant quatre séries de 75 échantillons.

4.1. Données sociodémographiques des 300 donneurs de sang :

Le sexe masculin avec 89% était largement majoritaire contre 11% pour le sexe féminin avec un sexe ratio de 8,09 en faveur des hommes.

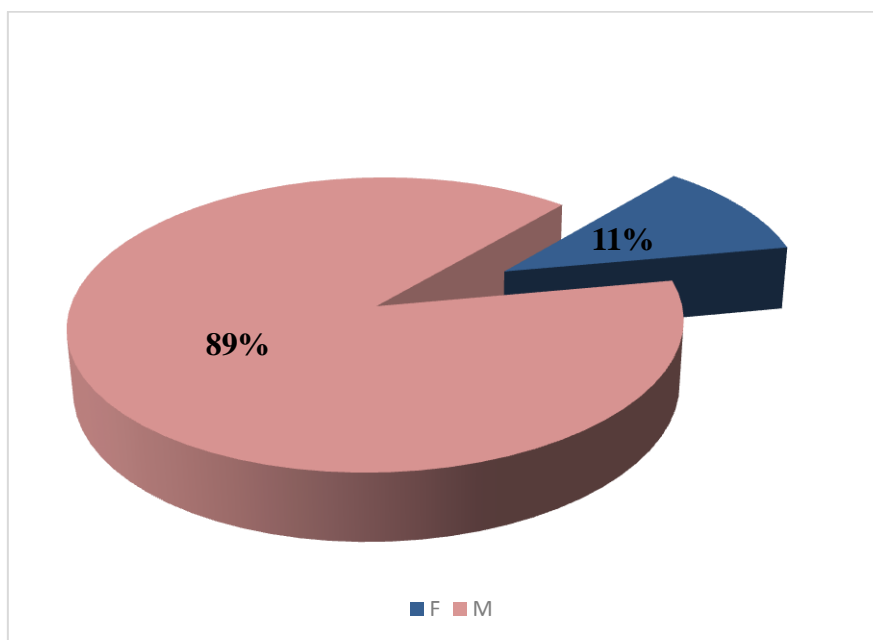


Figure 12 : Répartition des donneurs de sang selon le sexe.

Tableau IX : Répartition des donneurs de sang en fonction de la tranche d'âge.

Tranches d'âge	Nombre	Fréquence (%)
18 - 20	33	11,00%
21 - 25	60	20,00%
26 - 30	48	16,00%
31 - 35	63	21,00%
36 - 40	26	8,67%
41 - 45	38	12,67%
46 - 50	12	4,00%
51 - 56	20	6,67%
Total	300	100,00%

Les tranches d'âge 21 - 25 ans et 31 - 35 ans ont été les plus représentées avec respectivement 21 et 20%.

L'âge médian a été de 32 ans avec des extrêmes allant de 18 à 56 ans.

La provenance des donneurs de sang

La grande majorité de nos donneurs de sang résidait à Bamako avec $n = 274$ soit une prévalence de 91.3%.

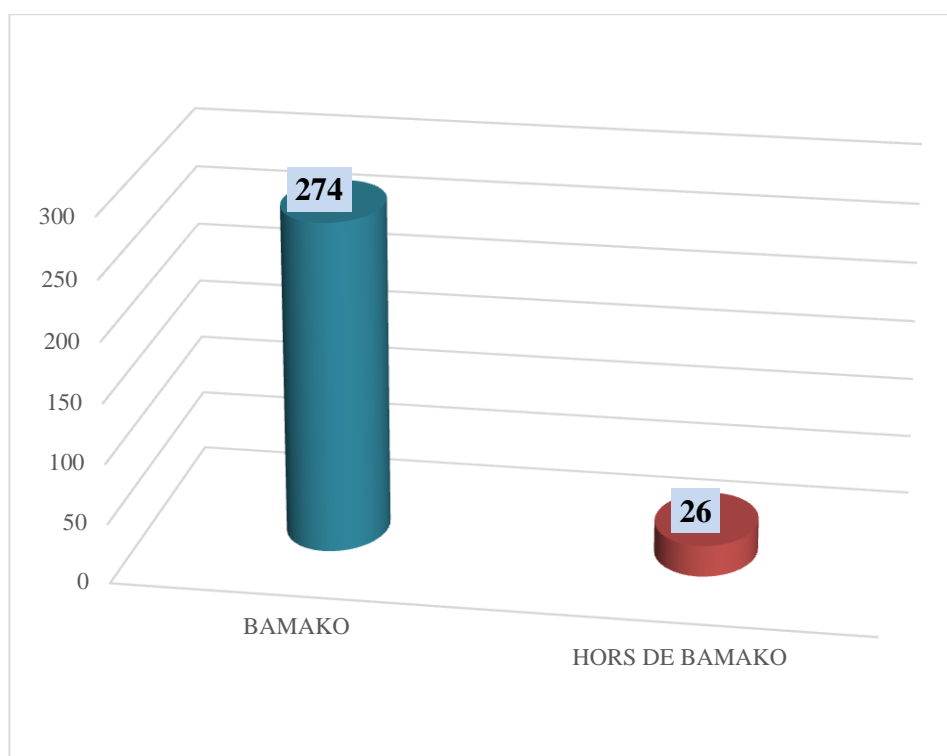


Figure 13 : Répartition de la population d'étude en fonction de la résidence des donneurs de sang de notre étude.

Les donneurs de compensation ont été largement majoritaires au cours de notre étude avec 95,33%.

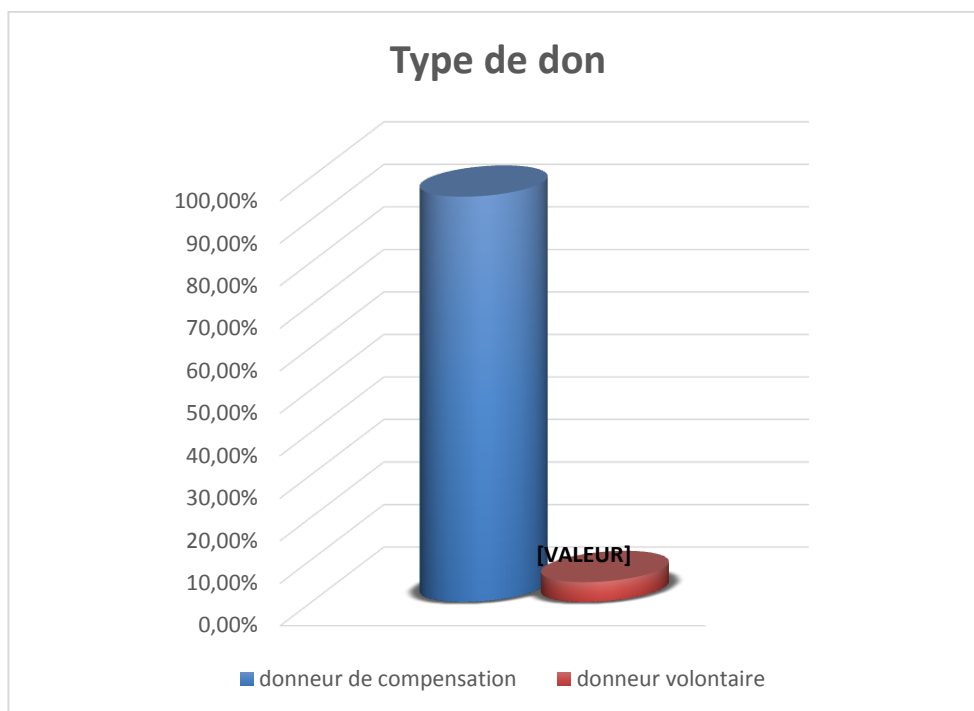


Figure 14 : Prévalence de la population en fonction du type de don.

L'analyse de cette figure a montré que 8 patients parmi les 300 se sont révélés positifs vis-à-vis des anticorps anti-VHD, soit 2.7% des patients testés positifs à l'AgHBs.

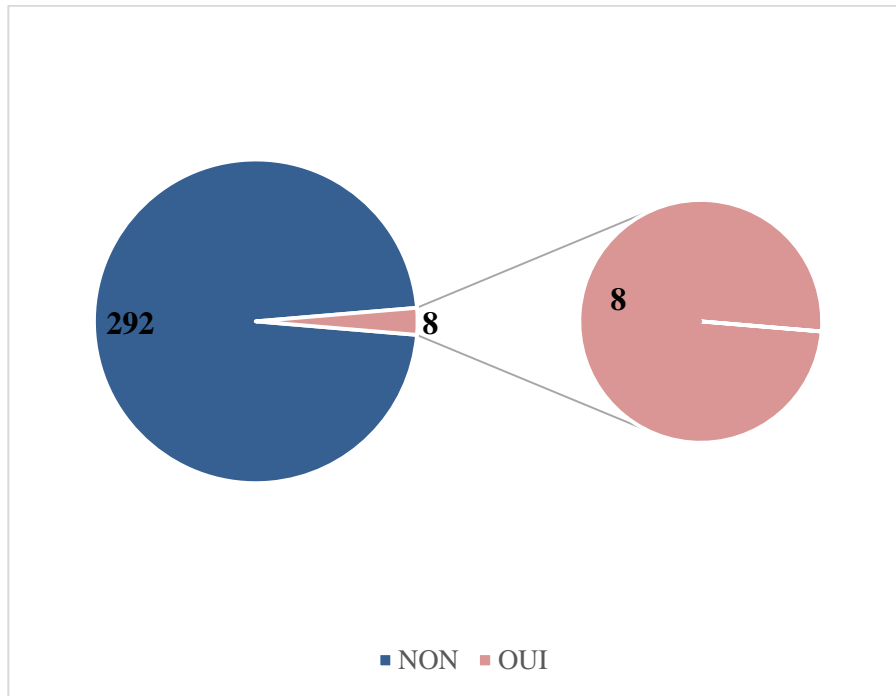


Figure 15 : Prévalence de l'hépatite delta positive dans notre population d'étude.

Après l'analyse des 300 échantillons vis-à-vis du VHD, VHC, VIH et de la Syphilis, nous avons obtenu respectivement les résultats suivants : 2,7%, 9%, 6,7% et 0%.

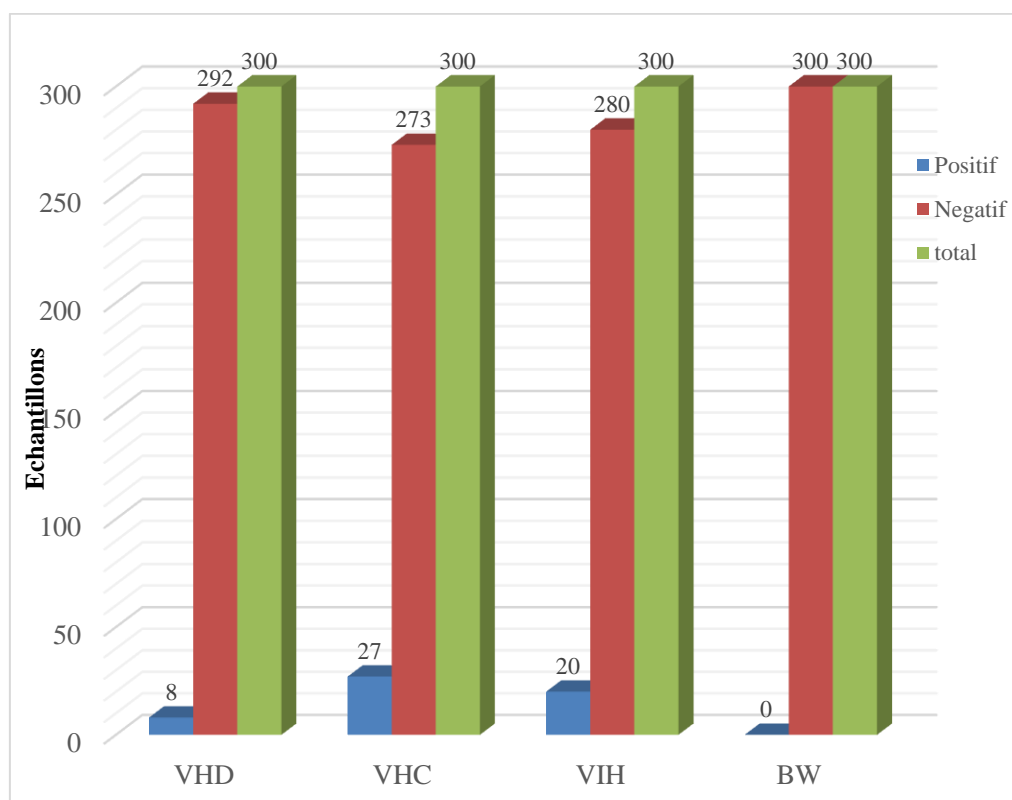


Figure 16 : figure représentative du résultat des 300 patients diagnostiqués vis-à-vis du VHD, VHC, VIH et de la Syphilis.

Tableau X : Caractéristiques des patients positifs au virus de l'hépatite Delta

		Patients
N		8
Sexe, n (%)	Femme	0 (0)
	Homme	8 (100)
Age, ans	Médiane	33
	IQR	34-26
Situation familiale, n (%)	Célibataire	3 (37.5)
	Marié	5 (62.5)
Situation géographique, n (%)	Bamako	8 (100)
	Hors de Bamako	0 (0)
Type de don, n (%)	Donneur de compensation	8 (100)
	Donneur volontaire	0 (0)
	Premier don	7 (87.5)

Il s'agit d'hommes résidant à Bamako et donneurs de compensation. L'âge médian est de 33 ans. Il s'agit en majorité d'hommes mariés (62.5 %) venus donner leur sang pour la première fois (87.5 %).

4.2. Genre (sexe) des patients diagnostiqués positifs au VHD

Tous les patients positifs aux anticorps anti-VHD ont été du sexe masculin.

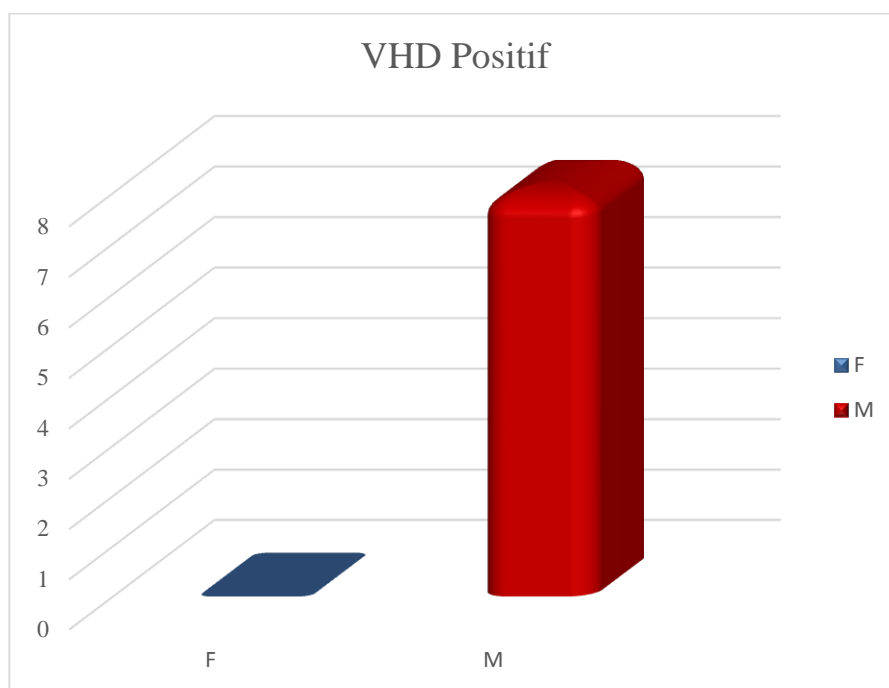


Figure 17 : Croisement entre le sexe et la positivité VHD dans la population d'étude.

Tableau XI : Croisement en fonction de l'âge et de la positivité du VHD obtenue dans notre étude.

AGE	RESULTAT DE HEPATITE D		Total
	NON	OUI	
18 - 20	33	0	33
21 - 25	59	1	60
26 - 30	46	2	48
31 - 35	60	3	63
36 - 40	25	1	26
41 - 45	37	1	38
46 - 50	12	0	12
51 - 56	20	0	20
TOTAL	292	8	300

Les tranches d'âge 26 - 30 ans et 31 - 35 ans ont été les plus représentées avec respectivement 2 et 3 cas positifs au VHD.

Les DBS des huit patients présentant des anticorps anti-VHD totaux ont ensuite été utilisés pour rechercher la présence de virus circulant (patients répliquants) et d'en réaliser le séquençage par des techniques de biologie moléculaire. Après la phase d'extraction réalisée à l'Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, la rétrotranscription et l'amplification ont été effectuées au CNR Hépatite Delta de l'Hôpital Avicenne. Ces techniques ont permis de mettre en évidence la présence d'un virus circulant chez le patient 236 montrant, au niveau du puits 5, une bande de même poids moléculaire que celle présente au niveau du puits 9 correspondant au témoin positif (Figure 18). La PCR nichée n'ayant pas présentée une sensibilité plus importante que la PCR classique, son produit d'amplification n'a pas été utilisé pour le séquençage.

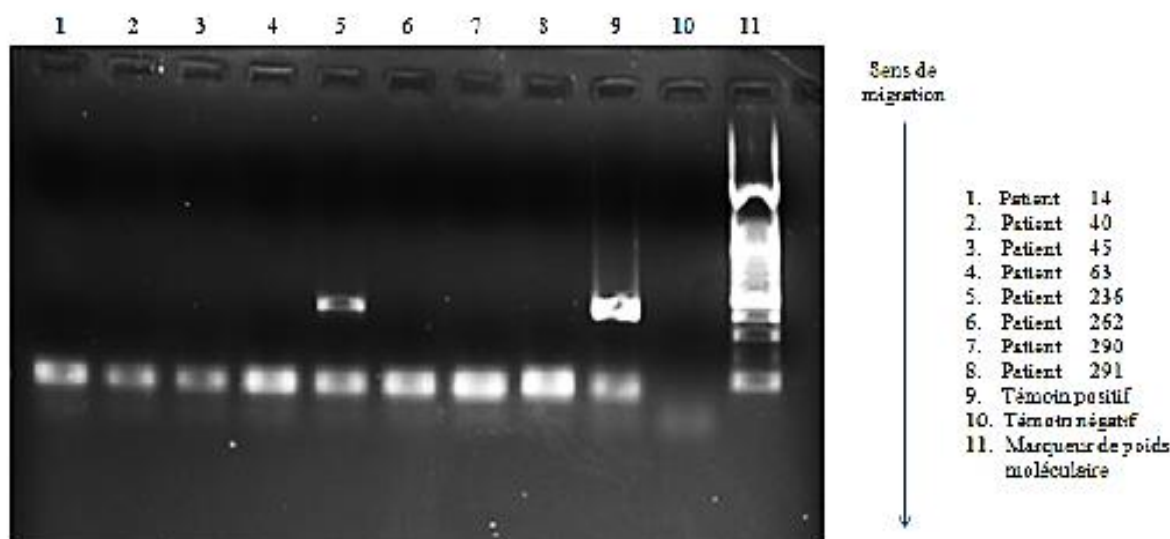


Figure 18 : Migration des produits d'amplification sur gel d'agarose.

Le séquençage par la méthode de Sanger et l'alignement des séquences par utilisation de logiciels spécialisés ont permis d'identifier le génotype du virus présent chez le patient 236.

En utilisant le séquençage d'autres virus hépatite Delta publié dans la littérature, un arbre phylogénétique a été élaboré (Figure 19).

Prévalence de l'hépatite delta à Bamako (Mali)

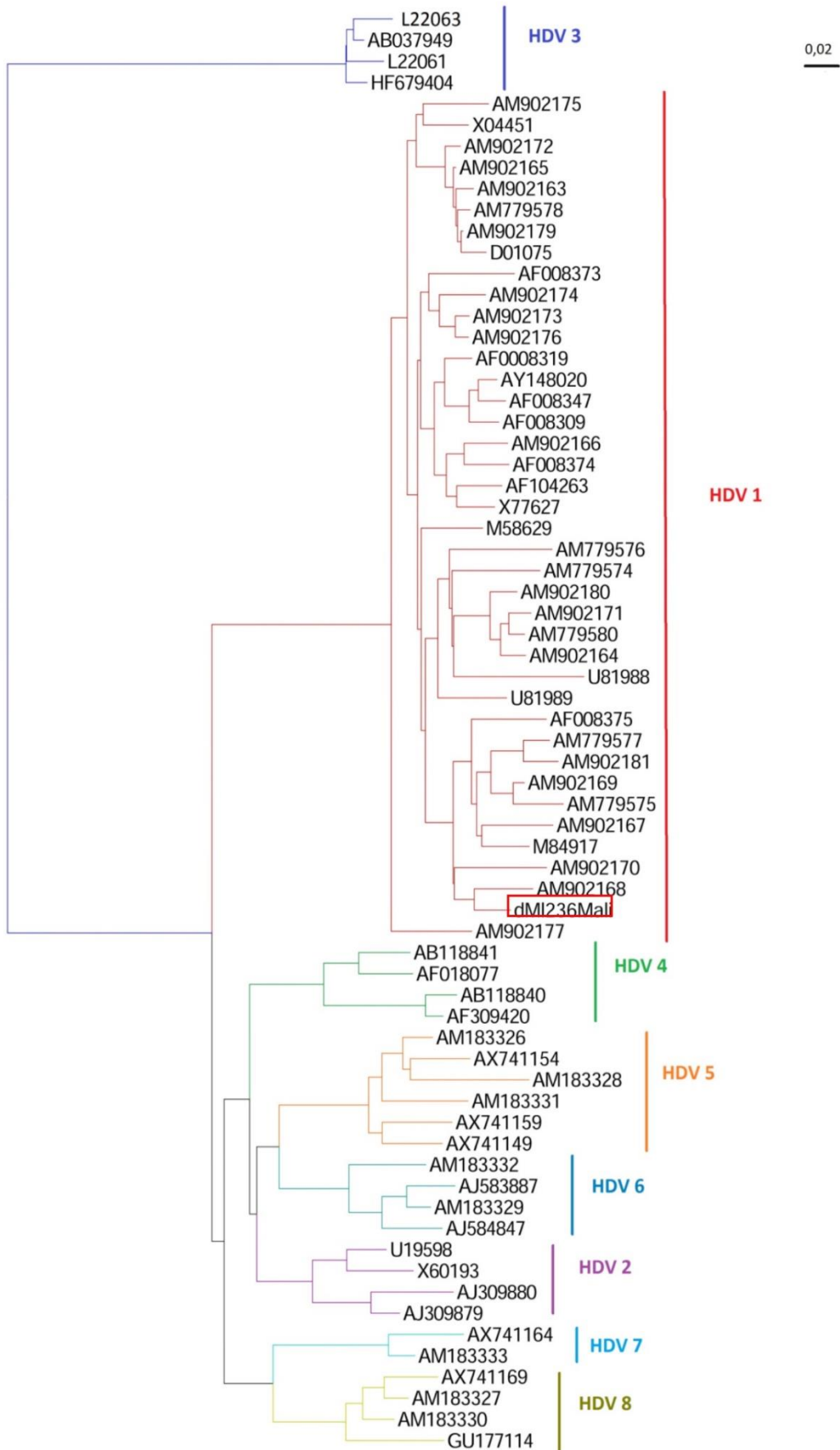


Figure 19 : Arbre phylogénétique des souches de virus hépatite Delta retrouvées dans la littérature.



COMMENTAIRES ET DISCUSSION

5. COMMENTAIRES ET DISCUSSION

5.1. Aspects méthodologiques

Il s'agissait d'une étude transversale prospective descriptive qui s'est déroulée d'Octobre à Décembre 2014, soit une période de 3 mois. Les différents prélèvements ont été réalisés au niveau de la Mini Banque de Sang du CHU Gabriel Touré et étaient au total 300 donneurs de sang positifs à l'AgHBs ne présentant aucune contre-indication absolue ou relative au don. Les 300 donneurs inclus dans notre étude ont tous donné leur consentement et les bonnes pratiques de laboratoire ont été scrupuleusement observées.

➤ Les Moyens diagnostics

Les sérums des échantillons collectés au CHU Gabriel Touré furent envoyés en France par un système d'envoi sécurisé des échantillons mis en place depuis quelques années. Les différentes analyses ont été effectuées entre le laboratoire de virologie de l'hôpital Pitié-Salpêtrière et au CNR Hépatite Delta (Centre National de Référence) de l'Hôpital Avicenne.

L'AgHBs, marqueur direct du VHB, traduisant la présence du virus dans le sérum, sa recherche dans notre étude a été effectuée par le Monolisa® AgHBs ULTRA. Cette technique de dernière génération est presque la même utilisée dans plusieurs études comme celle de Malagnino et al pour la détection des hépatites B occultes par l'Architect HBsAg Qualitative II Kit avec un seuil de détection de 0,02 IU/mL [47] et le test Murex HBsAg version 3 (DiaSorin, Italie) utilisé pour détecter l'HBsAg dans une étude réalisée par Sanou AM et al. au Burkina Faso en 2018 [48].

Les sérologies hépatite Delta ont été réalisées dans notre étude par la technique immunoenzymatique de type Elisa indirect sur ETI-Max 3000 DiaSorin® [49]. L'ETI-MAX 3000 est un analyseur de plaques de micro titration, contrôlé par le logiciel Windows PC, entièrement automatisé qui effectue le traitement complet de l'échantillon (pré-dilutions des échantillons, distribution des échantillons et des réactifs, incubations, processus de lavage, transports de la plaque), ainsi que la mesure et l'évaluation photométriques. La détection d'anticorps anti-VHD totaux par la technique Elisa constitue la méthode de référence lorsqu'elle est pratiquée sur du sérum de patient. Les techniques Elisa de dernière génération donnent des résultats

précis et fiables. Tout comme dans notre étude, beaucoup d'autres études sont réalisées à l'aide de ces ELISA de dernière génération. Au Burkina Faso en 2018, Sanou AM et al. ont réalisé la prévalence de l'hépatite delta à l'aide des kits ETI-AB-DELTAK-2 (DiaSorin, Italie) [50] et une autre étude en Guinée-Bissau a été réalisée avec Murex anti-delta (total) (Murex Biotech Limited, Dartford, Royaume-Uni) [51].

L'extraction de l'ARN viral a été effectuée par une technique manuelle sur le kit QIAamp® Viral RNA Mini avec une prise d'essai d'échantillon de 140 µL. L'extrait d'ARN purifié a été conservé à -80 ° C jusqu'à l'étape de la rétrotranscription et d'amplification d'une région cible du cDNA. La transcription a nécessité la présence d'amorces désoxyribonucléotidiques qui s'hybrident au hasard (RandomHexamers de chez Invitrogen®) sur l'ARN delta et d'une enzyme, la transcriptase inverse Superscript II (Reverse Transcriptase). Les produits de PCR sont ensuite purifiés à l'aide d'un kit PCR Cleanup Celera®. Les produits de PCR purifiés subissent une réaction de séquençage, c'est-à-dire l'introduction de didésoxyribonucléotides (dd-NTP) fluorescents, interrupteurs de chaîne, permettant l'arrêt de l'élongation. Les produits de séquences filtrés sont récupérés sur une plaque microAmp™ 96 puits. Le contenu de cette plaque est analysé par le séquenceur capillaire automatique ABI PRISM 3130 (AppliedBioSystem). Le logiciel Seqscape a été utilisé pour l'analyse des chromatogrammes. Les séquences sont ensuite analysées et alignées définitivement à l'aide du logiciel ClustalX. La région R0 a été choisie pour le séquençage car codant pour les protéines virales, c'est elle qui présente le moins de variabilité. Ensuite, l'analyse phylogénique est réalisée grâce au logiciel DNADist, qui calcule un score en fonction de la similitude des séquences trouvées par rapport aux séquences de référence, puis au logiciel Neighbors, qui va comparer ces scores et pouvoir générer, avec le programme OutTree, un arbre phylogénétique.

Le test utilisé pour le diagnostic du VIH est le Genscreen® ULTRA HIV Ag-Ab, et le Monolisa® Anti HCV plus version 2 a servi pour diagnostiquer le VHC. Le dépistage de la Syphilis a été fait par le VDRL (Venereal Disease Research Laboratory) et le TPHA.

5.2. Caractéristiques des donneurs de sang

L'objectif de ce travail a été de définir la prévalence de l'hépatite Delta chez les donneurs de sang au CHU Gabriel Touré de Bamako (Mali), en utilisant comme support le papier buvard. Sur les 300 patients AgHBs positif, seulement huit se sont révélés positifs vis-à-vis des anticorps anti-VHD, soit une prévalence de 2.7%.

Ce chiffre semble inférieur comparé à la prévalence mondiale estimée à environ 5%. Avec une prévalence de 7,33%, l'Afrique subsaharienne est une région du monde où la prévalence de l'hépatite delta est parmi les plus élevées [32]. Notre taux faible peut souffrir d'une sous-estimation due à un biais de recrutement : en effet, les patients ont été exclusivement des donneurs de sang, sous-entendant un état clinique normal ou ne contre-indiquant pas les critères du don, venus compenser les stocks de sang après la transfusion d'un proche dans 95,33% des cas et donc sensibilisés aux questions de santé. Notre résultat est similaire à 2% obtenu par Yacoubi et al. en Tunisie en 2015 [52] mais plus faible par rapport à celui rapporté par Asmah et al. au Ghana en 2014 qui a été de 11,3% chez les sujets porteurs chroniques du VHB [53] et 11,4% au Bénin chez les femmes enceintes [54].

En faisant une étude comparée entre le résultat obtenu dans notre étude et ceux d'autres études dans certains pays limitrophes du Mali, toujours chez les donneurs de sang, nous avons constaté que le nôtre est nettement inférieur à celui obtenu par Mansour et al. en Mauritanie en 2012 soit 19,78% [55]. Ce taux élevé est associé de manière significative à l'âge avancé, au nombre de mariages, à la profession militaire, à la résidence dans le désert et aux antécédents d'hospitalisation des patients mauritaniens, des données socio-démographiques que nous ne disposons pas toutes dans notre étude si n'est que notre population d'étude est majoritairement citadine, originaire de Bamako (91.3% ; n = 274), dotée d'un niveau socio-économique et un accès au soin plus avantageux que ceux rencontrés par les populations rurales où l'information et l'éducation autour des problématiques de santé sont peut-être moins relayées. Mais il est similaire à celui obtenu par A Sawadogo et al. au Burkina Faso en 2015 dont 3.38% [5] et 3.2% obtenu au Sénégal chez les patients vivants avec le VIH [4]. Il semblerait que, dans cette sous-région d'Afrique de l'Ouest, l'hépatite delta ne soit pas particulièrement prévalente comparativement à la situation en Afrique Centrale où la prévalence dépasse 25% de la population générale infectée par le VHB [27]. Au Gabon et au

Cameroun nous avons observé respectivement une forte prévalence du VHD chez les femmes enceintes 15,6% [56] et 7,3% [57].

Dans notre étude, seul le sexe masculin a été porteur des anticorps anti-VHD, ce résultat est comparable à celui A Sawadogo et al. au Burkina Faso en 2015 qui ont eu 6 (3,38%) de porteurs des anticorps anti-VHD tous du sexe masculin. Ceci pourra s'expliquer par le fait que dans notre société, les hommes sont plus aptes au don de sang.

Dans cette étude, l'utilisation du papier buvard comme support peut avoir sous-estimée la prévalence car la sensibilité de la technique a été évaluée à 82.1% lors d'une étude préliminaire. Il serait intéressant d'étendre notre travail à d'autres catégories de patients AgHBs positifs maliens comme les patients ruraux, les patients co-infectés (VIH, hépatites), les receveurs de sang en dehors des banques du sang ou encore chez des patients dans les âges extrêmes. En effet, l'âge médian des 300 patients est de 32 ans avec un IQR entre 23 et 39 années, excluant les enfants et les jeunes adultes ainsi que les sujets plus âgés ; or l'infection par le VHD étant majoritairement transmise lors de la petite enfance, il serait intéressant de voir l'évolution de la prévalence dans la population en fonction de l'âge.

Le séquençage du génome viral a été réalisé chez les huit patients présentant une sérologie positive au virus delta. La présence d'un virus circulant a pu être mise en évidence chez seulement le patient 236. Le virus isolé chez le patient 236 présente une forte similitude, au niveau de la séquence nucléotidique de la région R0, avec la souche AM902168 correspondant à un virus retrouvé chez un patient Ivoirien [58]. Les autres huit souches les plus proches de celle retrouvée chez le patient 236 (Tableau XII) ont été mise en évidence chez des patients également Ivoiriens, pour deux d'entre elles (souches AM902170 et AM902181 [58]), deux souches ont été isolées de patients originaire de République démocratique du Congo (souches AM902169 et AM902181 [58]), une souche d'un patient venant de Centrafrique (souche AM779577 [58]), une souche d'un patient du Cameroun (souche AM779575 [58]), une souche d'un patient d'Egypte (souche AF008375 [16]) et une souche d'un patient du Liban (souche M84917 [59]). Sur ces neuf souches, trois ont été isolées de pays limitrophes du Mali et huit de pays faisant partie du continent Africain.


Tableau XII : Neuf (9) souches présentant les séquences nucléotidiques les plus proches du patient 236

SOUCHES [16] [58] [59]	PAYS
AM902168	Côte d'Ivoire
AM902170	
AM902181	
AM902167	République démocratique du Congo
AM902169	
AM779577	Centrafrique
AM779575	Cameroun
AF008375	Egypte
M84917	Liban

Des études s'intéressant à la charge virale et au séquençage du VIH et du VHB ont montré une très bonne corrélation entre les données obtenues sur plasma et sur PBS avec toutefois une perte de sensibilité [60]. La limite de détection passant de 20 UI/ml d'ADN VHB sur plasma à environ 1000 UI/ml sur DBS. Ainsi l'utilisation de ce support n'a peut-être pas permis la détection et le séquençage de tous les patients présentant un virus circulant. Pour augmenter la sensibilité de la technique, une PCR nichée a été réalisée mais elle n'a pas présenté de meilleurs résultats. Une extraction manuelle sur colonnes a également été utilisée à la place de l'extraction automatisée pour augmenter le rendement et offrir la meilleure sensibilité à la technique de PCR. Pour s'affranchir de la perte de sensibilité due au support, il sera intéressant de répéter ces techniques directement sur le plasma des patients possédant des anticorps anti-VHD. Cependant, rappelons qu'une sérologie positive ne témoigne pas toujours du caractère répliatif de l'infection, elle peut être le marqueur d'une infection ancienne. Ainsi, dans une grande étude sur la prévalence de l'hépatite Delta en Afrique subsaharienne, les auteurs retrouvent, chez des patients mauritaniens donneurs de sang et chez des patients

Camerounais hospitalisés en hépatologie AgHBs positif et anticorps anti-VHD positif, seulement 62% et 61% de patients répliquants, respectivement (PCR ARN positive) [27].

Le séquençage a permis d'identifier le virus présent chez le patient 236 comme appartenant au génotype 1. Il s'agit d'un génotype ubiquitaire retrouvé partout dans le monde, retrouvé également dans une étude menée par Djebbi A. et al en Tunisie en 2009 [61] et aussi par Yacoubi et al. en Tunisie en 2015 [52]. Les génotypes 2 et 4 sont retrouvés en Asie, principalement au Japon et à Taiwan, le génotype 3 est retrouvé en Amazonie et enfin les génotypes 5, 6, 7 et 8 sont retrouvés essentiellement en Afrique. Plusieurs études montrent que dans la région d'Afrique de l'Ouest comprenant le Mali, les deux principaux génotypes circulants sont le 1 et le 5. Le génotype retrouvé chez le patient 236 s'inscrit dans la continuité des données de la littérature [27,62]. Il serait également intéressant de définir le sous-génotype du patient 236. Il semblerait qu'au Mali, les sous génotypes 1a et 1b pour le génotype 1 et les sous-génotypes 5a et 5b pour le génotype 5 soient les plus représentés [62]. Les séquences nucléotidiques codant pour la région R0 les plus proches de celle du patient 236, mises en évidence par phylogénie lors de ce travail, orientent vers des virus isolés de patients originaires de pays limitrophes du Mali comme la Côte d'Ivoire pour trois d'entre eux. Les autres souches sont retrouvées chez des patients originaires de pays plus éloignés du Mali mais appartenant à l'Afrique subsaharienne pour quatre d'entre eux. Néanmoins, la base de données utilisée pour la réalisation de l'arbre phylogénétique ne contenait aucune séquence nucléotidique provenant du Mali. Or il aurait été intéressant de situer le virus retrouvé au sein d'autres souches maliennes.



**CONCLUSION
ET RECOMMANDATIONS**

6. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

6.1. Conclusion

Notre étude nous a permis d'évaluer la prévalence de l'infection hépatique par le virus Delta au sein d'une population de donneurs de sang à Bamako (Mali) et d'effectuer le séquençage des différents gènes dans le cas de la positivité du virus de l'hépatite Delta. Une prévalence de 2.7% a été obtenue. Elle semble faible, probablement à cause de l'état de santé des donneurs, respectant les critères de dons de sang. Il serait plus intéressant d'étendre l'étude à d'autres zones géographiques et à d'autres groupes de sujets afin d'obtenir une prévalence plus précise de la maladie au Mali. Chez le patient 236, nous avons isolé un virus du génotype 1, beaucoup plus proche de souche AM902168 retrouvée en Côte d'Ivoire. Cette étude s'inscrit le cadre de l'élargissement des connaissances de la prévalence de l'infection par le VHD, nécessaire afin d'apporter des arguments pour le dépistage de la population et pour augmenter la vaccination contre le VHB à la naissance, meilleur moyen de faire baisser la prévalence mondiale de l'hépatite delta.

6.2. RECOMMANDATIONS

Au terme de notre étude, nous recommandons :

- Aux associations de lutte contre les hépatites et à la Direction Nationale de la Santé :
 - Multiplier les campagnes de vaccination contre le virus de l'hépatite B, en insistant sur la vaccination à la naissance ;
 - Mettre en place une politique de vaccination de rattrapage chez les adolescents ;
 - Préconiser la vacciner tout le personnel médical ;
 - Mettre dans les laboratoires d'analyses médicales du Mali, les moyens diagnostics du VHD ;
 - Etendre l'étude de la prévalence de l'hépatite Delta aux personnes infectées de façon chronique par le l'hépatite B ;
 - Tenant compte de l'existence de l'infection B occulte, inclure le diagnostic de l'infection hépatique delta chez les donneurs de sang ;

- Multiplier les campagnes de sensibilisation à l'endroit des personnes infectées par le virus de l'hépatite B.
- Aux personnes infectées par le virus de l'hépatite B :
 - D'utiliser les préservatifs lors des rapports sexuels ;
 - Les seringues et aiguilles stériles pour les toxicomanes ;
 - Des dispositifs médicaux à usage unique pour toute intervention ;
 - Une amélioration des conditions socio-économiques.

Bibliographie

1. Wang KS , Choo QL , Weiner AJ , Ou JH , Najarian RC , Thayer RM et al. Structure, sequence and expression of the hepatitis delta (delta) viral genome. Erratum in 1986 Oct 9-15;323(6088):508-14.
2. Ghamari S, Alavian SM, Rizzetto M, Olivero A, Smedile A, Khedive A, et al. Prevalence of Hepatitis Delta Virus (HDV) Infection in Chronic Hepatitis B Patients with Unusual Clinical Pictures. *Hepat Mon.* 16 août 2013;13(8). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3787685/>
3. Alfaiate D, Dény P, Durantel D. Hepatitis delta virus: From biological and medical aspects to current and investigational therapeutic options. *Antiviral Res.* oct 2015;122:112- 29.
4. Papa Saliou MBAYE ID. Epidémiologie des hépatites virales en Afrique subsaharienne. déc 2016;61.
5. Sawadogo A, Ouédraogo A-S, Poda GEA, Dahourou H, Pivert A, Mansour W, Ducancelle A, Lunel Fabiani F. Séroprévalence de l'infection par le virus de l'hépatite D dans une population de donneurs de sang porteurs de l'Antigène HBs au Centre régional de transfusion sanguine de Bobo-Dioulasso. *J Afr Hépatogastroentérologie.* 17 déc 2015;10.
6. Dembélé R. Profil épidémiologique et sérologique du virus de l'hépatite b dans un milieu urbain Bamako. Thèse de médecine. Faculté de médecine, de pharmacie et d'odontostomatologie [Bamako/ Mali]; 2011,62p.
7. Maiga FO. Contribution du laboratoire Rodolphe Mérieux dans le diagnostic biologique de l'infection par le virus de l'hépatite B. Thèse de Pharmacie. [Bamako/ Mali]: Faculté de Pharmacie; 2014,98p.
8. Traore D. Co-infection VIH et virus des hépatites b et c chez les patients suivis au service des maladies infectieuses du CHU du point g. Thèse de médecine. Universités des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako/Mali; 2014.
9. Traore M. étude comparative de la séroprévalence des marqueurs VIH, VHB et VHC des dons de sang en collecte fixe et mobile à Bamako. Thèse de doctorat en médecine. Universités des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako;2014;85 pages.
10. F SC and N. Le virus de l'hépatite delta : réplication et pathogenèse. *J Hepatol* Avril 2016; 64 (1 Suppl): S102-S116 Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27084031>

11. Rizzetto M, Canese MG, Aricò S, Crivelli O, Trepo C, Bonino F, et al. Immunofluorescence detection of new antigen-antibody system (delta/anti-delta) associated to hepatitis B virus in liver and in serum of HBsAg carriers. *Gut*. déc 1977;18(12):997- 1003.
12. Gudima S, Chang J, Moraleda G, Azvolinsky A, Taylor J. Parameters of Human Hepatitis Delta Virus Genome Replication: the Quantity, Quality, and Intracellular Distribution of Viral Proteins and RNA. *J Virol*. 15 avr 2002;76(8):3709- 19.
13. Polish LB, Gallagher M, Fields HA, Hadler SC. Delta hepatitis: molecular biology and clinical and epidemiological features. *Clin Microbiol Rev*. juill 1993;6(3):211 - 29.
14. Alves C, Branco C, Cunha C. Hepatitis Delta Virus: A Peculiar Virus. *Adv Virol*. 2013;2013: 560105.
15. Huang C-R, Lo SJ. Hepatitis D virus infection, replication and cross-talk with the hepatitis B virus. *World J Gastroenterol WJG*. 28 oct 2014;20(40):14589- 97.
16. Perveen S, Nasir MI, Shahid SM, Azhar A, Khan OY. Phylogenetic analysis of HDV isolates from HBsAg positive patients in Karachi, Pakistan. *Virol J*. 15 août 2012;9:162.
17. Luma HN, Eloumou SAFB, Okalla C, Donfack-Sontsa O, Koumitana R, Malongue A, et al. Prevalence and Characteristics of Hepatitis Delta Virus Infection in a Tertiary Hospital Setting in Cameroon. *J Clin Exp Hepatol*. 1 déc 2017;7(4):334- 9.
18. Jamjoom GA, El-Daly MM, Azhar EI, Fallatah HI, Akbar HO, Babatin M, et al. Prevalence and molecular characterization of hepatitis D virus in Saudi Arabia: A single-center study. *Saudi J Gastroenterol Off J Saudi Gastroenterol Assoc*. juin 2017;23(3):176 -182.
19. Le Gal F, Gault E, Ripault MP, Serpaggi J, Trinchet JC, Gordien E, et al. Eighth Major Clade for Hepatitis Delta Virus. *Emerg Infect Dis*. sept 2006;12(9):1447- 50.
20. Chang J, Nie X, Chang HE, Han Z, Taylor J. Transcription of Hepatitis Delta Virus RNA by RNA Polymerase II. *J Virol*. févr 2008;82(3):1118- 27.
21. Greco-Stewart VS, Schissel E, Pelchat M. The hepatitis delta virus RNA genome interacts with the human RNA polymerases I and III. *Virology*. 30 mars 2009;386(1):12- 5.
22. Li Y-J, Macnaughton T, Gao L, Lai MMC. RNA-Templated Replication of Hepatitis Delta Virus: Genomic and Antigenomic RNAs Associate with Different Nuclear Bodies. *J Virol*. 7 janv 2006;80(13):6478- 86.
23. Kuo MY, Sharmeen L, Dinter-Gottlieb G, Taylor J. Characterization of self-cleaving RNA sequences on the genome and antigenome of human hepatitis delta virus. *J Virol*. 12 janv 1988;62(12):4439- 44.

24. Nouredin M, Gish R. Hepatitis Delta: Epidemiology, Diagnosis and Management 36 Years After Discovery. *Curr Gastroenterol Rep.* 2014;16(1).
25. Moatter T, Abbas Z, Shabir S, Jafri W. Clinical presentation and genotype of hepatitis delta in Karachi. *World J Gastroenterol WJG.* 14 mai 2007;13(18):2604- 7.
26. Schweitzer A, Horn J, Mikolajczyk RT, Krause G, Ott JJ. Estimations of worldwide prevalence of chronic hepatitis B virus infection: a systematic review of data published between 1965 and 2013. *Lancet Lond Engl.* 17 oct 2015;386(10003):1546- 55.
27. Prévalence de l'infection par le virus de l'hépatite D en Afrique subsaharienne: revue systématique et méta-analyse. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5599428/>
28. Osiowy C, Andonov A, Fonseca K, Swidinsky K, Giles E, Mason A, Coffin CS. Transmission of hepatitis D virus between spouses: A longitudinal study of the first reported Canadian case. *IDCases.* 6 mars 2017;8:37- 41.
29. Makuwa M, Mintsa-Ndong A, Souquiere S, Nkoghé D, Leroy EM, Kazanji M. Prevalence and molecular diversity of hepatitis B virus and hepatitis delta virus in urban and rural populations in northern Gabon in central Africa. *J Clin Microbiol.* 2009 Jul;47(7): 2265-8.
30. Prevalence of hepatitis delta virus (HDV) infection in chronic hepatitis B patients in eastern Turkey: still a serious problem to consider - Bahcecioglu - 2011 - *Journal of Viral Hepatitis* - Wiley Online Library.
31. Epidemiological and clinical evaluation of hepatitis B, hepatitis C, and delta hepatitis viruses in Tajikistan - Khan - 2008 - *Journal of Medical Virology* - Wiley Online Library. Disponible sur: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jmv.21057>
32. Stockdale AJ, Chaponda M, Beloukas A, Phillips RO, Matthews PC, Papadimitropoulos A, et al. Prevalence of hepatitis D virus infection in sub-Saharan Africa: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Glob Health.* oct 2017;5(10):e992-e1003.
33. Servant-Delmas A, Gal FL, Gallian P, Gordien E, Laperche S. Increasing prevalence of HDV/HBV infection over 15 years in France. *J Clin Virol.* 1 févr 2014;59(2):126- 8.
34. Gordien E. L'infection par le virus de l'hépatite Delta. Données françaises récentes. *Bull Epidémiol Hebd.* 2015;(19-20):347-52. http://www.invs.sante.fr/beh/2015/19-20/2015_19-20_3.html.
35. Gish Robert G, Yi Debbie Hana, Kane Steve, Clark Margaret, Mangahas Michael, Baqai Sumbella, et al. Coinfection with hepatitis B and D: Epidemiology, prevalence and disease in patients in Northern California. *J Gastroenterol Hepatol.* 11 avr 2013;28(9):1521- 5.

36. Pol S. Traitements des hépatites virales delta. *data/revues*. 29 févr 2008;29(4):384-387; Disponible sur: <http://www.em-consulte.com/en/article/100210>
37. al HS et. Virus de l'hépatite delta. - PubMed - NCBI [Internet]. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21511329>
38. Romeo Raffaella. Hepatitis Delta: Natural history and outcome. *Clin Liver Dis*. 1 déc 2013;2(6):235- 6.
39. A.V.S C de vaccinations internationales AF par. Hépatite B – informations et conseils – vaccin - vaccinations [Internet]. Centre de vaccinations internationales Air France. [cité 26 juill 2018].
40. Botelho-Souza LF, Vasconcelos MPA, dos Santos A de O, Salcedo JMV, Vieira DS. Hepatitis delta: virological and clinical aspects. *Virology*. 13 sept 2017;14.
41. Guglielmi S, Frossard J-L, Negro F. Is there hope for hepatitis delta ?. *Rev Med Suisse*. 31 août 2016;12(528):1415- 8.
42. Urban S, Bartenschlager R, Kubitz R, Zoulim F. Strategies to inhibit entry of HBV and HDV into hepatocytes. *Gastroenterology*. juill 2014;147(1):48- 64.
43. Lonafarnib for Chronic Hepatitis D - Full Text View - ClinicalTrials.gov [Internet]. Disponible sur: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01495585>
44. Yurdaydin C, Keskin O, Kalkan Ç, Karakaya F, Çalışkan A, Karatayli E, et al. Optimizing lonafarnib treatment for the management of chronic delta hepatitis: The LOWR HDV-1 study. *Hepatology*. avr 2018;67(4):1224- 36.
45. Bazinet M, Pântea V, Cebotarescu V, Cojuhari L, Jimbei P, Albrecht J et al. Sécurité et efficacité de REP 2139 et de l'interféron alfa-2a pégylé pour les patients naïfs de traitement avec le virus de l'hépatite B chronique et le virus de l'hépatite ... -*Lancette Gastroenterol Hepatol*. 2017 Dec; 2(12):877-889.
46. Larkin MA, Blackshields G, Brown NP, Chenna R, McGettigan PA, McWilliam H, et al. Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics*. 1 nov 2007;23(21):2947- 8.
47. Malagnino V, Fofana DB, Lacombe K, Gozlan J. Occult Hepatitis B Virus Infection: An Old Entity With Novel Clinical Involvements. *Open Forum Infect*. 14 sept 2018;5(10).
48. Sanou AM, Benkirane K, Tinto B, Cissé A, Sagna T, Ilboudo AK et al. Prevalence of Hepatitis B virus and Hepatitis D virus Coinfection in Western Burkina Faso and molecular characterization of the detected virus strains. *Int J Infect Dis*. Mai 2018;70:15-19.

49. ETI–Max 3000 [Internet]. DiaSorin. Disponible sur: <https://www.diasorin.com/en/immunodiagnostic-solutions/systems/elisa-systems/eti-max-3000>
50. Sanou AM, Benkirane K, Tinto B, Cissé A, Sagna T, Ilboudo AK, et al. Prevalence of Hepatitis B virus and Hepatitis D virus Coinfection in Western Burkina Faso and molecular characterization of the detected virus strains. *Int J Infect Dis.* mai 2018;70:15- 9.
51. Hønge BL, Jespersen S, Medina C, Té D da S, da Silva ZJ, Lewin S, et al. Hepatitis B and Delta Virus Are Prevalent but Often Subclinical Co-Infections among HIV Infected Patients in Guinea-Bissau, West Africa: A Cross-Sectional Study. *PLoS ONE.* 10 juin 2014;9(6). Disponible sur:
52. Yacoubi L, Brichler S, Mansour W, Le Gal F, Hammami W, Sadraoui A, et al. Molecular epidemiology of hepatitis B and Delta virus strains that spread in the Mediterranean North East Coast of Tunisia. *J Clin Virol Off Publ Pan Am Soc Clin Virol.* nov 2015;72:126- 32.
53. Asmah RH, Boamah I, Afodzinu M, Brown CA, Brandful J, Adjei DN, et al. Prevalence of hepatitis d infection in patients with hepatitis B virus-related liver diseases in Accra, Ghana. *West Afr J Med.* mars 2014;33(1):32- 6.
54. De Paschale M, Ceriani C, Cerulli T, Cagnin D, Cavallari S, Ndayaké J, et al. Prevalence of HBV, HDV, HCV, and HIV infection during pregnancy in northern Benin. *J Med Virol.* août 2014;86(8):1281- 7.
55. Mansour W, Bollahi MA, Hamed CT, Brichler S, Le Gal F, Ducancelle A, et al. Virological and epidemiological features of hepatitis delta infection among blood donors in Nouakchott, Mauritania. *J Clin Virol Off Publ Pan Am Soc Clin Virol.* sept 2012;55(1):12- 6.
56. Makuwa M, Caron M, Souquière S, Malonga-Mouelet G, Mahé A, Kazanji M. Prevalence and Genetic Diversity of Hepatitis B and Delta Viruses in Pregnant Women in Gabon: Molecular Evidence that Hepatitis Delta Virus Clade 8 Originates from and Is Endemic in Central Africa. *J Clin Microbiol.* 2 janv 2008;46(2):754- 6.
57. Ducancelle A, Abgueguen P, Birguel J, Mansour W, Pivert A, Guillou-Guillemette HL, et al. High Endemicity and Low Molecular Diversity of Hepatitis B Virus Infections in Pregnant Women in a Rural District of North Cameroon. *PLOS ONE.* 12 nov 2013;8(11):e80346.
58. Belyhun Y, Liebert UG, Maier M. Clade homogeneity and low rate of delta virus despite hyperendemicity of hepatitis B virus in Ethiopia. *Virol J.* 12 sept 2017;14.
59. Molecules d'acides nucleiques d'hcv, leurs fragments et leurs applications. 2002. Disponible sur: <https://patents.google.com/patent/EP1430134B1/fr>

60. Mohamed S, Raimondo A, Pénaranda G, Camus C, Ouzan D, Ravet S, et al. Dried Blood Spot Sampling for Hepatitis B Virus Serology and Molecular Testing. PLOS ONE. 16 avr 2013;8(4):e61077.
61. Djebbi A, Rebai WK, Bahri O, Hogga N, Sadraoui A, Triki H. [Serological markers, viral RNA and genotype of hepatitis delta virus in HBs antigen positive Tunisian patients]. Pathol Biol (Paris). déc 2009;57(7- 8):518- 23.
62. Masood U, Savio J. Hepatitis D. StatPearls. 25 nov 2017 [cité 21 juin 2018]; Disponible sur: <http://knowledge.statpearls.com/chapter/usmle%20step%203/22792/>

FICHES SIGNALÉTIQUE

Nom : COULIBALY

Prénom : Kadiatou dite Barro

Nationalité : Malienne

Section : PHARMACIE

Email : kadiatbc@yahoo.com

Téléphone : (+223) 76 19 22 18

Titre de la thèse : « Prévalence de l'hépatite Delta au CHU Gabriel Touré de Bamako (Mali) »

Année universitaire : 2018 - 2019

Ville de soutenance : Bamako

Pays d'origine : Mali

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la Faculté de Pharmacie (FAPH)

Secteur d'intérêt : Virologie, Hépatite B, Hépatite Delta, Prévalence, Séquençage, Microbiologie et infectiologie

RESUME :

L'hépatite delta n'étant pas diagnostiquée de façon systématique au cours des dons de sang dans les pays à ressource limitée a les mêmes modes de transmission et de contamination qui sont principalement parentéraux mais aussi sexuels.

Notre objectif a été d'étudier la prévalence de l'infection par le virus de l'hépatite delta (VHD) chez les donneurs de sang au CHU Gabriel Touré de Bamako.

Notre étude s'est déroulée à Bamako (Mali). La mini banque de sang du Centre Hospitalo-Universitaire (CHU) Gabriel Touré a servi de cadre pour la collecte de nos échantillons qui

furent ensuite envoyés à l'hôpital Pitié-Salpêtrière (France) pour les analyses moléculaires par Polymerase Chain Reaction (PCR).

Notre population d'étude était composée de 300 donneurs AgHBs positif.

Après le prélèvement, les cartes DBS ont été confectionnées et envoyées en France.

La sensibilité de la technique sur DBS a été évalué à 82.1%. Il s'agissait de réaliser la sérologie de l'hépatite Delta par la technique immun-enzymatique de type Elisa indirect sur ETI-Max 3000 DiaSorin® et d'en déduire le séquençage à partir de la séquence nucléotidique de la région RO.

Sur les 300 patients AgHBs positif, 8 ce sont révélés positifs soit une prévalence de 2,7%. Le sexe masculin avec 89% était largement majoritaire contre 11% pour le sexe féminin avec un sexe ratio de 8,09 en faveur des hommes.

Les tranches d'âge 21-25 ans et 31-35 ans ont été les plus représentées avec respectivement 21 et 20%. L'âge médian a été de 32 ans avec des extrêmes allant de 18 à 56 ans. La grande majorité de nos donneurs de sang résidait à Bamako avec $n = 274$ soit une prévalence de 91.3%.

Une analyse des 300 échantillons vis-à-vis du VHD, VHC, VIH et de la Syphilis a été réalisé, nous avons obtenu respectivement les résultats suivants : 2,7%, 9%, 6,7% et 0%. Le séquençage a permis d'isoler chez le patient 236 un virus du génotype 1.

Cette étude montre une prévalence faible du VHD, probablement à cause de l'état de santé des donneurs, respectant les critères de dons de sang. Il serait plus intéressant d'étendre l'étude à d'autres zones géographiques et à d'autres groupes de sujets afin d'obtenir une prévalence plus précise de la maladie au Mali.

Cette étude indique la nécessité d'inclure le diagnostic de l'infection hépatique delta chez les donneurs de sang pour une sécurité transfusionnelle compte tenu de l'existante de l'hépatite B occulte.

Mots clés : Prévalence, virus, Hépatite B, Hépatite Delta, séquençage, Mali.

SUMMARY :

Since hepatitis delta is not systematically diagnosed during blood donations in resource-limited countries, it has the same modes of transmission and contamination that are mainly parenteral but also sexual.

Our objective was to study the prevalence of hepatitis delta virus (HDV) infection among blood donors at the Gabriel Touré University Hospital in Bamako.

Our study was done in Bamako (Mali). The Gabriel Touré University Hospital Centre (UHC) blood bank served as the framework for the collection of our samples, which were then sent to the Pitié-Salpêtrière Hospital in Paris (France) for molecular analyses by Polymerase Chain Reaction (PCR).

Our study population was 300 donors who were positive to the surface antigen HBsAg.

After the sampling, the DBS cards were made and sent to France.

The sensitivity of the technique on DBS was evaluated at 82.1%. The aim was to serologize Delta hepatitis using the indirect Elisa enzyme immunoassay technique on ETI-Max 3000 DiaSorin® and to derive the sequencing from the nucleotide sequence of the RO region.

Of the 300 HBsAg donors who were positive, 8 were positive, either a prevalence of 2.7%. The male sex with 89% was largely majority against 11% for the female sex with a sex ratio of 8.09 in favour of males.

The 21-25 and 31-35 age groups were the most represented with 21 and 20% respectively. The median age was 32 years with extremes ranging from 18 to 56 years. The majority of our blood donors resided in Bamako with $n = 274$ or a prevalence of 91.3%.

An analysis of the 300 samples for HDV, HCV, HIV and Syphilis was carried out and the following results were obtained : 2.7%, 9%, 6.7% and 0% respectively. Sequencing was possible to isolate a genotype 1 virus from donor number 236.

This study shows a low prevalence of HDV, probably due to the health status of donors who meet the blood donation criteria. It would be more interesting to extend the study to other

geographical areas and groups of subjects in order to obtain a more accurate prevalence of the disease in Mali.

This study indicates the need to include the diagnosis of delta hepatic infection in blood donors for transfusion safety in view of the existing occult hepatitis B.

Keywords : Prevalence, virus, hepatitis B, hepatitis Delta, sequencing, Mali.

SERMENT DE GALIEN

« Je jure, en présence des maîtres de la faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couverte d'opprobre et méprisée de mes confrères si j'y manque

».

Je le jure