

**Ministère de l'Education Nationale**

REPUBLIQUE DU MALI  
Un Peuple - Un But - Une Foi

Direction Nationale des Enseignements  
Supérieurs et de la Recherche Scientifique

**ECOLE NATIONALE DE MEDECINE  
ET DE PHARMACIE**

**Efficacité et Tolérance d'un Vaccin Multidose  
contre l'Hépatite B au Mali**

Par:

Mr Madiou Hamadoun TRAORE

**T H E S E**

Présentée et publiquement soutenue pour l'obtention du grade de Docteur en Pharmacie (Diplôme d'Etat)

**EXAMINATEURS**

**PRESIDENT** professeur Souleymane SANGARE

**MEMBRES** professeur Boubacar Sidiki Cisse

professeur Pierre SALIOU

professeur Eric RICHARD

Docteur Georges SOULA directeur de thèse

**Date de Soutenance**

**No de Thèse**

**ANNÉE 198**

**ECOLE NATIONALE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE DU MALI  
ANNEE ACADEMIQUE 1989-1990**

\*\*\*\*\*

Professeur Sambou SOUMARE  
Professeur Bocar SALL  
Professeur Hubert BALIQUE  
Monsieur Abdoulaye KOROMA  
Monsieur Hama B. TRAORE

Directeur Général  
Directeur Général Adjoint  
Conseiller technique  
Secrétaire Général  
Econome

**D.E.R. DE CHIRURGIE ET DE SPECIALITES CHIRURGICALES**

**1. PROFESSEURS AGREGES**

Professeur Mamadou Lamine TRAORE , Chef de D.E.R.  
Professeur Aliou BA  
Professeur Bocar SALL  
Professeur Mamadou DEMBELE  
Professeur Abdel Karim KOUMARE  
Professeur Sambou SOUMARE  
Professeur Abdoul Alassane TOURE

Chirurgie générale, Médecine légale  
Ophtalmologie  
Orthopédie-Traumatologie  
Chirurgie générale  
Chirurgie générale  
Chirurgie générale  
Orthopédie-Traumatologie

**2. ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE**

Docteur Bénitiéni FOFANA  
Docteur Mme SY Aïda SOW  
Docteur Kalilou QUATTARA  
Docteur Amadou Ingré DOLO  
Docteur Mamadou Lamine DIOMBANA  
Docteur Djibril SANGARE  
Docteur Salif DIAKITE  
Docteur Massaoulé SAMAKE  
Docteur Mme TRAORE Jeannette THOMAS  
Docteur Abdoulaye DIALLO  
Docteur Alhousseïni AG MOHAMED  
Docteur Madani TOURE  
Docteur Tahrou BA  
Docteur Mamadou DOLO  
Docteur Mady MACALOU  
Docteur Mme Fanta KONIPO  
Docteur Nouhoum BA  
Docteur Cheick Mohamed Chérif CISSE  
Docteur Gérard TRUSCHEL  
Docteur Mme DIANE Fatimata S. DIABATE  
Docteur Gangaly DIALLO  
Docteur Abdoulaye DIALLO

Gynécologie-Obstétrique  
Gynécologie-Obstétrique  
Urologie  
Gynécologie-Obstétrique  
Odonto-stomatologie  
Chirurgie générale  
Gynécologie-Obstétrique  
Gynécologie-Obstétrique  
Ophtalmologie  
Ophtalmologie  
O.R.L.  
Chirurgie infantile  
Chirurgie générale  
Chirurgie générale  
Orthopédie-Traumatologie  
O.R.L.  
Chirurgie générale  
Urologie  
Anatomie  
Gynécologie-Obstétrique  
Chirurgie générale  
Anesthésie réanimation

**3. ASSISTANTS ET C.E.S.**

Docteur Abdoul Kader TRAORE dit DIOP  
Docteur Daba SOGODOGO  
Docteur Lessana KOITA  
Docteur Sékou SIDIBE  
Docteur Filling SISSOKO  
Docteur Sidi Mohamed COULIBALY  
Docteur Mamadou A. CISSE  
Mme COUMARE Fanta COULIBALY

Chirurgie générale  
Chirurgie générale  
Chirurgie générale  
Orthopédie-Traumatologie  
Chirurgie générale  
Ophtalmologie  
Urologie  
T.P. soins infirmiers

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

### **1. PROFESSEURS AGREGES**

Professeur Souleymane SANGARE, Chef de D.E.R.	Pneumo-Phtisiologie
Professeur Abdoulaye AG RHALY	Médecine Interne
Professeur Aly GUINDO	Gastro-Entérologie
Professeur Mamadou Kouréissi TOURE	Cardiologie
Professeur Mahamane MAIGA	Néphrologie
Professeur Aly Nouhoum DIALLO	Médecine Interne
Professeur Baba KOUMARE	Psychiatrie
Professeur Moussa TRAORE	Neurologie
Professeur Mamadou Marouf KEITA	Pédiatrie
Professeur Issa TRAORE	Radiologie
Professeur Eric PICHARD	Maladies infectieuses

### **2. ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE**

Docteur Balla COULIBALY	Pédiatrie
Docteur Sidi Yéhia TOURE	Réanimation
Docteur Toumani SIDIBE	Pédiatrie
Docteur Boubacar DIALLO	Cardiologie
Docteur Dapsa Aly DIALLO	Hématologie, médecine interne
Docteur Sidi Mohamed SALL	Cardiologie
Docteur Souminté KEITA	Dermatologie-Léprologie

### **3. ASSISTANTS ET C.E.S.**

Docteur Moussa MAIGA	Gastro-Entérologie
Docteur Bah KEITA	Pneumo-Phtisiologie
Docteur Hamar Alassane TRAORE	Médecine Interne
Docteur Mme KONARE Habibatou DIAWARA	Dermatologie-Léprologie
Docteur Kader TRAORE	Médecine Interne

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

### **1. PROFESSEURS AGREGES**

Professeur Bréhima KOUMARE, Chef de D.E.R.	Microbiologie
Professeur Siné BAYO	Anatomie Pathologique
Professeur Abdel Karim KOUMARE	Anatomie

### **2. DOCTEURS D'ETAT**

Professeur Yéya Tiémoko TOURE	Biologie
Professeur Amadou DIALLO	Zoologie-Généétique

### **3. DOCTEURS 3EME CYCLE**

Professeur Boubou DIARRA	Microbiologie
Professeur Moussa HARAMA	Chimie Minérale et Organique
Professeur Massa SANDO	Chimie Analytique
Professeur Niamanta DIARRA	Mathématiques
Professeur N'Golo DIARRA	Botanique
Professeur Souleymane TRAORE	Physiologie Générale
Professeur Moussa Issa DIARRA	Biophysique
Professeur Salikou SANDO	Physique
Professeur Mme THIAM Aïssata SOW	Biophysique
Professeur Daouda DIALLO	Chimie Minérale
Professeur Abdoulaye KOUMARE	Chimie Générale
Professeur Yéniomégué Albert DEMBELE	Chimie Organique
Professeur Bakary M. CISSE	Biochimie
Professeur Godefroy COULIBALY	T.P. Parasitologie
Professeur Mamadou KONE	Anatomie-Physiologie Humaine
Professeur Jacqueline CISSE	Biologie Animale
Professeur Bakary SACKO	Biochimie

### **4. MAITRES ASSISTANTS**

Docteur Ogobera DOUMBO	Parasitologie
Docteur Anatole TOUNKARA	Immunologie
Docteur Geoussou KANOUTE	Chimie Analytique
Docteur Hama CISSE	Chimie Générale
Docteur Amadou TOURE	Histologie-Embryologie
Docteur Abdramane TOUNKARA	Biochimie

### **5. ASSISTANTS**

Docteur Flabou SOUGOUDO	T.P. microbiologie
Docteur Abdoul K. TRAORE dit DIOP	T.P. Anatomie

### **7. CHARGE DE COURS**

Monsieur Modibo DIARRA	Diététique-Nutrition
------------------------	----------------------

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

### **1. PROFESSEURS AGREGES**

Professeur Boubacar CISSE, Chef de D.E.R.	Toxicologie
Professeur Mamadou KOUMARE	Matière médicale, pharmacologie

### **2. DOCTEURS 3EME CYCLE**

Docteur Mme CISSE Aminata GAKOU	Pharmacie Galénique
---------------------------------	---------------------

### **3. MAITRES ASSISTANTS**

Docteur Boulkassoum HAIDARA	Législation-Gestion Pharmaceutique
Docteur Boubacar KANTE	Pharmacie Galénique
Docteur Elimane MARIKO	Pharmacodynamie
Docteur Souleymane DIA	Pharmacie Chimique
Docteur Alou KEITA	Pharmacie Galénique
Docteur Arouna KEITA	Matière Médicale
Docteur Souleymane GUINDO	Gestion
Docteur Ousmane DOUMBIA	Chimie thérapeutique
Docteur Harouna KEITA	Pharmacognosie

### **4. ASSISTANT**

Docteur Drissa DIALLO	Matière médicale
-----------------------	------------------

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

### **1. PROFESSEUR AGREGE**

Professeur Sidi Yaya SIMAGA, Chef de D.E.R.	Santé Publique
---	----------------

### **2. MAITRE DE CONFERENCE**

Docteur Hubert BALIQUE	Santé Publique
------------------------	----------------

### **3. ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE**

Docteur Sory Ibrahime KABA	Epidémiologie
Docteur Sanoussi KONATE	Santé Publique
Docteur Moussa Adama MAIGA	Santé Publique
Docteur Georges SOULA	Epidémiologie
Docteur Pascal FABRE	Santé Publique
Docteur Bocar TOURE	Santé Publique

### **4. CHARGES DE COURS**

Monsieur Cheick Tidiani TANDIA	Hygiène du Milieu
Madame MAIGA Fatoumata SOKONA	Hygiène du Milieu

## **PROFESSEURS MISSIONNAIRES**

Professeur Oumar SYLLA	Pharmacie Chimique
Professeur Humbert GIONO-BARBER	Pharmacodynamie
Docteur Guy BECHIS	Biochimie
Professeur François MIRANDA	Biochimie
Professeur Alain GERAULT	Biochimie
Docteur Marie-Hélène ROCHAT	Pharmacie Galénique
Docteur François ROUX	Biophysique
Docteur Alain LAURENS	Pharmacie Chimique
Monsieur El Hadj Makhtar WADE	Bibliographie
Professeur Jean Pierre REYNIER	Pharmacie Galénique
Professeur GENIAUX	C.E.S. Dermatologie
Professeur LAGOUTTE	C.E.S. Ophtalmologie
Professeur Philippe YERIN	C.E.S. Ophtalmologie
Professeur Jean Pierre BISSET	Biophysique
Professeur Paulette GIONO-BARBER	Anatomie-Physiologie Humaine

## **DEDICACES**

**Cette thèse est dédiée,**

**A toutes les victimes de l'hépatite B,**

**Aux parents et aux agents de santé, qui ont le devoir de contribuer à une meilleure application des mesures d'hygiène et de prophylaxie,**

**Aux optimistes qui fondent leurs espoirs sur le progrès technologique et refusent d'admettre comme inéluctable la morbidité et la mortalité élevée de l'hépatite B, dans les pays en voie de développement,**

**Aux Institutions de recherche scientifique et industrielle qui oeuvrent pour rendre financièrement accessible au plus grand nombre d'individus la vaccination contre l'hépatite B.**

A ma mère, Kaïva Madiou TRAORE : ton courage m'a guidé durant toute la réalisation de ce travail dont la plus grande part te revient. Tu demeures pour moi un modèle de travail.

A mon père, Hamadoun Abathina TRAORE : les sages conseils que tu m'as prodigués me servent toujours de repères.

A ma tante Halimatou Ibrahima CISSE : pour votre accueil toujours chaleureux et votre soutien moral, qui ne m'ont jamais fait défaut.

A mon oncle, Ahmadou Madiou TRAORE et ma soeur, Guoungou M'Bodji TRAORE, in memoriam : j'aurais voulu partager avec vous les joies de ce moment solennel de ma vie. Le destin en a décidé autrement. Puisse la terre vous être légère.

A mes frères et soeurs, Ibrahima M'Bodji TRAORE, Madiou Kola TRAORE, Ibrahima Bokaïna TRAORE, Alkalifa Ibrahima CISSE, Fatouamata M'Bodji TRAORE, Aïssatou M'Bodji TRAORE : pour vous assurer de mon affection fraternelle et de mon fidèle attachement.

A mes oncles, Alamine Baba TRAORE et Sididié Qumar TRAORE : c'est pour moi l'occasion de vous adresser mes plus vifs remerciements et ma profonde gratitude, pour tout ce que vous avez consenti à mon égard. Soyez assuré de ma profonde reconnaissance et de mon fidèle attachement.

A mon frère et ami, Abdou Dialy TOURE : nous avons grandi ensemble ; c'est le moment de te renouveler l'assurance de mon affection fraternelle et amicale, ainsi que mon profond attachement. Puisse l'avenir maintenir et renforcer notre union.

A mes cousines, Mme DIAKITE Fatoumata S. TRAORE, Mme MAIGA Mariam S. TRAORE, Mme CISSE Aïssata S. TRAORE : votre soutien matériel ne m'a jamais fait défaut durant mes études. Trouvez ici l'expression de ma profonde gratitude et de mon profond attachement.

A toutes mes cousines et à tous mes cousins : pour vos encouragements.

A Monsieur Handane Baba TALLA et famille à Tombouctou (Aberadjou) : votre soutien matériel ne m'a jamais fait défaut durant mes études secondaires. Votre aide a été inestimable et je vous en suis très reconnaissant.

A l'équipe de PASTEUR vaccins , en particulier L. TEULIERES, N. LE CAM, J.E CERISIER et A.M. HILLION, qui ont largement contribué à la réalisation de cette étude.

Aux docteurs Hamar Alassane TRAORE et Ogobara DOUMBO : en témoignage de ma reconnaissance.

Aux docteurs Ba Aiti TAMBOURA et Belco KODIQ : grace à vous, j'ai pu apprécier l'esprit d'équipe et le travail bien fait, tant en ville qu'en milieu rural. Soyez en remercié.

A mes amis Hamadoun SANGHO, Amadou M. CISSE, Amadou G. TOURE, Fatoumata I. TOURE, Seydou A. TRAORE, Nouhoum KONATE, Amadou F. TRAORE, Mohamed Ag MOSSA, Yehia K. CISSE : veillons à ce que notre amitié se consolide davantage.

À Madame Marie-Hélène SOULA : pour avoir eu la gentillesse de mettre en forme ce document, veuillez trouver ici mes sincères remerciements.

A tout le personnel du Département d'Epidémiologie des Affections Parasitaires de l'E.N.M.P. : pour votre grande sympathie.

A tous mes promotionnaires : en souvenir du chemin parcouru ensemble.

A tous les étudiants de l'E.N.M.P. : je vous souhaite du courage.

A tous les ressortissants de GOUNDAM : en guise de reconnaissance.

## **AUX MEMBRES DU JURY**

A Monsieur le Professeur Souleymane SANGARE, président du Jury

Chef de D.E.R. de médecine et spécialités médicales,

Chef de service de pneumo-phtisilogie à l'hôpital national du Point G,

Directeur du Centre National d'Immunisation.

Malgré vos multiples occupations, vous avez accepté de présider ce jury. Soyez assuré, cher Maître, de notre profonde admiration et de notre respect.

A Monsieur le Professeur Boubacar Sidiki CISSE

Chef de DER de sciences pharmaceutiques,

Professeur de toxicologie à l'E.N.M.P.

Chef de service de toxicologie-bromatologie à l'I.N.R.S.P.

Votre souci constant d'assurer une formation de qualité aux étudiants en pharmacie font de vous un professeur modèle et respecté. Veuillez accepter, cher Maître, l'expression de notre profonde gratitude.

A Monsieur le Professeur Pierre SALIDU

Professeur de microbiologie,

Directeur Médical de Pasteur vaccins

Après avoir confié la réalisation de cette étude à l'E.N.M.P., votre présence parmi les membres de notre jury est le témoignage du grand intérêt que vous accordez à la recherche en vaccinologie. Veuillez trouver ici l'expression de notre admiration et de notre profond respect

À Monsieur le Professeur agrégé Eric PICHARD

Service de médecine interne de l'hôpital National du Point G

Tout au long de cette recherche, vous nous avez réservé un accueil chaleureux et vos précieux conseils ont contribué à sa finalisation. Vos travaux antérieurs et votre expérience clinique de l'hépatite B au Mali font de vous un juge avisé de ce travail. Soyez assuré de nos plus sincères remerciements.

À Monsieur le docteur Georges SOULA, directeur de thèse

Assistant de Santé Publique à l'E.N.M.P.

Vous avez bien voulu nous confier ce sujet de thèse. Cela a été l'occasion de découvrir et aimer la Santé Publique, l'esprit d'équipe et les bons moments passés sur le terrain, la rigueur scientifique dans l'analyse des résultats. À votre contact, nous avons toujours trouvé conseils et compréhension. Soyez assuré de notre admiration et de nos sincères remerciements.

## **LISTE DES ABREVIATIONS**

<b>HB</b>	<b>Hépatite virale</b>
<b>HBV</b>	<b>Virus de l'hépatite B</b>
<b>HBs Ag</b>	<b>Antigène de surface du virus de l'hépatie B</b>
<b>HBc Ag</b>	<b>Antigène central du virus de l'hépatie B</b>
<b>HBe Ag</b>	<b>Antigène " e " du virus de l'hépatie B</b>
<b>Anti-HBs</b>	<b>Anticorps dirigé contre l'antigène de surface du virus de l'hépatie B</b>
<b>Anti-HBc</b>	<b>Anticorps dirigé contre l'antigène central du virus de l'hépatie B</b>
<b>Anti-HBe</b>	<b>Anticorps dirigé contre l'antigène " e " du virus de l'hépatie B</b>
<b>SIDA</b>	<b>Syndrôme de l'immunodéficience humaine</b>
<b>VIH</b>	<b>Virus de l'immunodéficience humaine</b>
<b>CPF</b>	<b>Cancer primitif du foie</b>

## SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	1
<b>RAPPELS SUR L'HEPATITE A VIRUS B</b>	
1- Rappel sur les différents types d'hépatites virales.....	3
2- Caractéristiques du virus de l'hépatite B.....	4
3- Aspects immunologiques.....	5
4- Manifestations cliniques.....	13
<b>EPIDEMIOLOGIE DE L'HEPATITE B</b>	
1- Prévalence comparative des marqueurs sériques.....	15
2- Sous-types de l'antigène HBs.....	16
3- Enquêtes sérologiques réalisées au Mali.....	18
4- Autres enquêtes en Afrique de l'Ouest.....	20
5- Facteurs favorisant le portage chronique.....	21
6- Tentative d'explication du profil épidémiologique de l'hépatite B.....	22
<b>PREVENTION DE L'HEPATITE B PAR LA VACCINATION</b>	
1- Les deux types de vaccin disponibles.....	24
2- Procédé de fabrication du vaccin d'origine plasmatisque.....	24
3- Rôle et importance de l'antigène pré-S.....	28
<b>METHODOLOGIE</b>	
1- Lieu de l'essai.....	29
2- Population étudiée.....	29
3- Critères d'inclusion et randomisation.....	29
4- Schéma de vaccination et vaccins utilisés.....	29
5- Schéma de prélèvement.....	30
6- Surveillance clinique et traitements associés.....	31
7- Critères d'évaluation.....	32
8- Traitement des données.....	32
<b>RESULTATS</b>	
1- Caractéristiques des patients.....	33
2- Assiduité.....	35
3- Comparabilité des groupes.....	36
4- Efficacité.....	37
5- Tolérance.....	38
DISCUSSION ET CONCLUSION.....	41
<b>BIBLIOGRAPHIE</b>	
<b>ANNEXES</b>	

## INTRODUCTION

L'hépatite B pose un problème important de santé publique, par sa fréquence et sa gravité potentielle dans les pays en voie de développement [30]. On estime à 300 millions d'individus le nombre de porteurs chroniques du virus de l'hépatite B à travers le monde [50].

L'épidémiologie de l'hépatite B est liée à la précocité et au caractère quasi obligatoire de l'infection, ainsi qu'à la présence élevée des porteurs de l'antigène HBs à partir desquels l'infection se transmet [91].

Le nombre des sujets ayant rencontré le virus varie de 6% dans les zones de faible endémie, jusqu'à 70 à 95% dans les zones de haute endémie.

En Afrique noire, dans certaines régions, 40% de la population portent l'anticorps anti HBs, ce qui indique qu'une grande partie des individus a été infectée par le virus de l'hépatite B pendant une certaine période [57].

Le taux de portage chronique de l'antigène HBs varie en Afrique suivant les régions. Les plus fortes prévalences se rencontrent en Afrique occidentale : la fréquence moyenne est de 10% [91], mais on a trouvé 20% de porteurs d'antigène HBs en Mauritanie, 11,17% au Tchad, 11,3% en Guinée, 11,2% au Mali, d'après Soulier et Courouge. En Afrique centrale, selon Prince [84], le taux de portage de l'antigène HBs est de 6% en Angola en utilisant la technique d'immunodiffusion. Au Cameroun, la prévalence est de 6,3% par la méthode d'électro-immuno-diffusion [89]. Au Zaïre, Mugembe, toujours par la même méthode, a trouvé un taux de portage de l'antigène HBs de 3,72% [70]. Au Congo, par la méthode radio-immunologique, on a trouvé un taux de 9,6% [49].

L'hépatite B est transmise par des voies similaires à celles du SIDA : le sang et ses dérivés [88], les contacts sexuels [47] et la contamination mère-enfant [50]. Cette transmission mère-enfant est quasi inévitable quand la mère est antigène HBs positif [10-24]. La contamination peut aussi se faire dans la promiscuité par transmission membre à membre [33].

L'Afrique noire a le triste privilège de posséder les prévalences de cirrhose et de cancer primitif du foie non éthylique les plus élevées du monde [91]. On trouve chez la plupart des cancéreux hépatiques la filiation hépatite-cirrhose-cancer [76], confirmée par l'étude des marqueurs sérologiques du virus de l'hépatite B [57]. La transmission verticale est à l'origine du portage chronique de l'antigène HBs, qui évolue vers le CPF (cancer primitif du foie). Ainsi l'hépatite B est en Afrique noire une maladie très précoce, atteignant les enfants dans les tous premiers mois de la vie [33].

La vaccination constitue une arme prophylactique très efficace contre l'hépatite B et ses redoutables complications, dont la fréquence est d'autant plus élevée que le sujet est infecté plus jeune. Le taux de couverture vaccinale contre l'hépatite B reste aujourd'hui très insuffisant dans les pays du tiers monde et particulièrement en Afrique, pour des raisons d'ordre

économique : le prix des vaccins disponibles demeure encore trop cher pour les budgets des Ministères de la Santé de ces pays.

Pasteur Vaccin développe une nouvelle présentation du vaccin Hévac B, en flacon multidoses, qui diffère du vaccin classique unidose par la présence d'un conservateur : le mercurothiolate sodique. L'intérêt de cette présentation serait de réduire le prix unitaire de la vaccination par le moindre coût de conditionnement et en administrant des demi-doses pédiatriques. Cette réduction du prix unitaire de la vaccination permettrait peut-être aux pays sous-développés d'introduire la vaccination contre l'hépatite B dans le Programme Elargi de Vaccination (PEV).

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'efficacité et la tolérance du vaccin multidose administré à raison de 2,5 microgrammes d'antigène HBs par 0,5 ml, comparées au vaccin classique en présentation unidose de 5 microgrammes d'antigène HBs /ml.

Nous présenterons successivement les différents aspects virologiques, immunologiques, cliniques, épidémiologiques et prophylactiques de l'Hépatite B, avant d'exposer la méthodologie et les résultats de l'essai clinique qui seront discutés.

## L' HEPATITE VIRALE B

### 1- Rappel sur les différents types d'hépatite virale

Le foie peut être infecté par de nombreux virus responsables du polymorphisme des hépatites virales. A côté du virus B qui fait l'objet de cette étude, on peut citer les virus A, C, le covirus delta, le virus d'Epstein-Barr, le cytomégalovirus, l'herpès-virus, les arbovirus.

#### 1-1 Hépatite A

L'hépatite A touche l'enfant et l'adulte jeune. La mortalité ne dépasse pas 2,5% selon les expériences [56-105]. Elle a un caractère bénin et une période d'incubation courte, de 2 à 6 semaines. De même que les poliovirus, la contamination est oro-fécale et très précoce : 100% des enfants sont porteurs du virus de l'hépatite A, dès l'âge de 5 ans [98]. La réduction de son incidence passe essentiellement par une amélioration des conditions d'hygiène et du niveau socio-économique [69].

#### 1-2 Hépatite B

La découverte en 1965 par Blumberg de l'antigène Australia (Ag HBs) a permis de reconnaître l'un des marqueur de l'hépatite B [35], immunologiquement distinct du virus de l'hépatite A [42].

Le virus de l'hépatite B a une structure complexe, représentée par la particule de DANE. Cette particule ou virion, comprend une enveloppe externe qui est l'Ag HBs et une particule centrale ou nucléocapside qui porte l'Ag HBc (Ag du core) et une ADN bicaténaire, circulaire. Le virion se réplique grâce à un ADN polymérase, présent dans le nucléocapside [27]. L'Ag HBs et l'ADN polymérase se rencontrent au niveau des hépatocytes. Enfin la particule antigénique "e" ou Ag HBe témoigne toujours d'une répllication virale active, ce qui explique pourquoi les sangs contenant de l'Ag HBe sont exclus du matériel de départ des vaccins plasmatiques, du type Maupas-Pasteur.

Le mode de transmission sera développé dans la partie épidémiologie.

#### 1-3 Hépatite C

La récente identification par la méthode RIA et ELISA de l'agent responsable des hépatites non A-non B, appelées désormais hépatite C [25], a permis de détecter l'anticorps anti-HCV au niveau des protéines [54]. La fréquence avec laquelle le virus de l'hépatite C est responsable de l'hépatite transfusionnelle est en cours d'études [5, 52]. On explore également la responsabilité de ce virus dans l'apparition secondaire de cirrhose et de cancer primitif du foie.

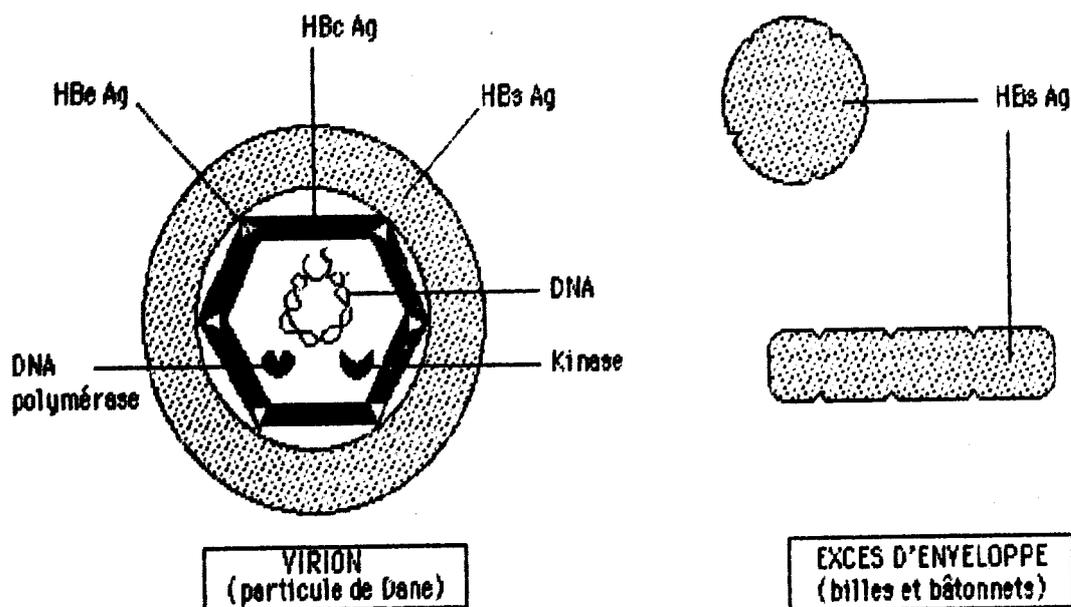
## 2- Caractéristiques du virus de l'Hépatite B

Le virus de l'hépatite B correspond à la particule décrite par DANE. C'est un virus ADN de 42 à 45 nanomètres de diamètre, constitué d'une enveloppe, d'une capsid et d'une particule antigénique. L'enveloppe est de nature lipoprotéique de 7 nm d'épaisseur. Elle constitue l'antigène de surface du virus et se trouve à l'état libre, dans le sérum des sujets Ag HBs positif, sous la forme de petites sphères de 20 à 22 nm de diamètre, souvent associées à des bâtonnets de diamètre voisin mais de longueur variable (40 à 400 nm). Elle peut être libérée de la particule entière par des détergents.

L'enveloppe des particules de Dane contient la capsid du virus, de symétrie cubique ou "core", qui contient elle-même l'ADN viral. La capsule mesure 27 à 28 nm de diamètre et possède une spécificité antigénique différente de l'HBs Ag : c'est l'HBc Ag, que l'on peut isoler dans le foie des porteurs de l'HBs Ag, mais qui n'a jamais été identifié dans le sang circulant. Les anticorps anti-HBc, en revanche, apparaissent 2 à 10 semaines après l'HBs Ag et persistent chez les porteurs chroniques.

Enfin, l'HBe Ag est une protéine sensible à la température et correspond à une partie de l'HBc Ag. Sa présence est d'un très mauvais pronostic pour l'évolution d'une hépatite B [30].

FIGURE 1 : Ultrastructure du virus de l'hépatite B.



Au plan immunologique, il existe plusieurs sous-types sérologiques de l'Antigène d'enveloppe (a, y, r, d, w) mais tous porteurs d'un déterminant antigénique commun "a". C'est ce dernier qui est responsable de l'immunité croisée existant entre les divers sous-types du virus de

l'hépatite B. Un vaccin fait d'un seul sous-type de l'HBs Ag induit donc une immunité contre tous les sous-types de virus de l'Hépatite B.

L'ADN, de faible poids moléculaire, porte l'information génétique et présente une partie monocaténaire qui pourrait être le site d'initiation de la réplication virale [91] ; il est associé à l'enzyme polynérase, comme le prouve la résistance de la capside aux ribonucléases et désoxyribonucléases.

#### - Caractères physico-chimiques

L'HBs Ag est très stable.

Il résiste :

- \* aux congélations et décongélations successives ;
- \* au chauffage (à 56° pendant 12 heures, à 60° pendant 1 h, à 98° pendant 1 mn en perdant le pouvoir infectant mais garde l'antigénicité dans ce dernier cas) ;
- \* à la digestion enzymatique (pepsine, trypsine) ;
- \* au traitement acide (pH 2 à 5) ;
- \* à l'urée ;
- \* à l'action de l'alcool, de l'éther, des antiseptiques.

Il est inactivé par le propiolactone en solution de 2 à 4/1000. Congelé à -20° C, il peut être conservé pendant plusieurs années. A température ambiante, il se conserve pendant 1 an.

Ackerman a résumé ses propriétés physico-chimiques dans le tableau suivant :

**TABLEAU N°1 : Propriétés physico-chimiques du virus de l'hépatite B**

PROPRIETES	HBs Ag	Particule de DANE	Nucléocapside
Densité en Cs Cl g/ml	1,21	1,25	1,32
Diamètre en nanomètre	20	42	27
Poids x10 <sup>6</sup> Dalton	3,7 - 4,6		4,5
Vitesse de sédimentation S <sub>20,W</sub>	30,8 - 54		110
Point isoélectrique pH	3,9 - 4,9		4,1
Mobilité électrophorétique	globuline $\alpha$ ou $\beta$		
Protéine	70%	+	+
Lipide	25%	+	-
Glucide	+		
Acide nucléique	-		ADN bicaténaire

### 3- Aspects immunologiques

#### 3-1 Réplication virale

Deux phases sont à distinguer :

- une phase de réplication complète qui se traduit dans le foie par la présence d'HBs Ag associé à des particules d'HBc Ag intranucléaires, d'HBs Ag dans le cytoplasme et sur la membrane des hépatocytes. Cette réplication s'observe à la phase initiale de l'hépatite aiguë, dans les hépatites chroniques et chez les sujets immunodéprimés.

- une phase de synthèse exclusive d'HBs Ag où tout se passe comme si une partie seulement de l'information génétique du virus était transmise à la cellule hépatique, aboutissant à la synthèse des lipoprotéines de l'enveloppe virale. Cette réplication s'observe principalement chez les porteurs d'antigène sans lésions hépatiques associées.

##### 3-1-1 Le système HBs Ag/anti HBs

###### - HBs Ag :

L'HBs Ag est l'antigène de surface du virus. C'est une lipoprotéine de poids moléculaire supérieur à 3 millions de dalton. Il est le premier marqueur à apparaître après une exposition. Il représente une mosaïque de spécificité immunologique différente qui permet de distinguer des sérotypes [56] qui seront développés dans la partie épidémiologique.

###### - Anti-HBs :

Il apparaît 1 à 4 mois après l'infection et joue un rôle protecteur contre l'hépatite B [44]. De nature Ig G surtout, il est appelé marqueur de la guérison [40]. Le caractère précoce de l'infection dès la première enfance fait que la prévalence de l'anti HBs augmente avec l'âge [97]

##### 3-1-2 Le système HBc Ag/anti HBc

###### - HBc Ag :

Après traitement des particules de Dane par le Tween 80 (tensio actif), ALMEIDA et Coll. isolent le nucléocapside de 27 nm de diamètre portant cette spécificité antigénique [90]. Il a été détecté par immunofluorescence directe dans le noyau des hépatocytes infectés. Les personnes HBs positives en phase d'hépatite chronique active ont généralement cet HBc Ag.

###### - Anti HBc :

Il apparaît pendant la phase aiguë de la maladie [53]. Sa disparition est d'excellent pronostic. HOOFNAGLE et coll. considèrent l'Anti HBc comme un signe de réplication virale [44]. Son dosage peut se faire dans le sérum de façon précoce, bien avant celui des anticorps anti HBs et l'élévation des transaminases [56].

### 3-1-3 Le système HBe Ag /anti HBe

#### - HBe Ag :

L'éclatement du nucléocapside libre de l'HBe Ag [105] ; cet antigène est présent dans le sérum sous forme de protéine soluble. Ces protéines ont plusieurs spécificités antigéniques HBe<sub>1</sub>, HBe<sub>2</sub>, HBe<sub>3</sub> [90]. Le sulfate d'ammonium permet leur fractionnement.

L'HBe Ag est aussi un marqueur d'évolutivité : sa persistance dans le sérum plus de 8 semaines après le début d'une hépatite aiguë doit faire redouter une évolution vers la chronicité. C'est donc un marqueur d'intérêt pronostique au cours des hépatites chroniques [65]. Les enfants dont les mères sont HBe Ag positives ont toutes des risques élevés de devenir porteurs chroniques de l'infection virale.

#### - Anti HBe :

Il n'est détectable qu'après la négativation de l'HBe Ag.

### 3-1-4 Antigène des particules de DANE

Cet antigène associé aux particules de Dane a été décrit par ALBERTI en 1978 mais reste différent de l'HBs Ag. Sa signification reste à préciser [90].

### 3-1-5 Antigène Delta

Il fut découvert en 1977 par RIZETTO, par immunofluorescence nucléaire [85-100]. C'est une protéine de poids moléculaire de 68 000 dalton qui n'est pas détectable au niveau du sérum. Il est nucléocapsidique et surtout rencontré en Italie du Sud. L'anticorps homologue anti-delta peut être détecté dans le sérum [100].

### 3-1-6 ADN et ADN polymérase

#### - ADN :

L'ADN est bicaténaire circulaire, de poids moléculaire de  $1,6$  à  $2 \times 10^6$  dalton, et composé de 3.600 nucléotides [65]. La détection de l'ADN viral dans le sérum et dans le foie permet une étude plus directe des interactions entre virus et hépatocytes [21].

#### - ADN polymérase :

Il est présent dans le nucléocapside et au niveau des hépatocytes.

### 3-1-7 Interprétation des marqueurs sériques du HBV

Les réactions immunologiques possibles après infection par le virus se résument ainsi [23] :

#### - Hépatite virale aiguë qui va guérir

L'HBs Ag apparaît entre le premier et le deuxième mois après l'exposition, et disparaît vers le 5ème mois. Les anticorps anti-HBc, témoins de la répllication du virus, apparaissent vers le

2ème mois ; leur titre va croissant pour rester stable pendant des années. L'hépatite clinique se manifeste environ un mois après l'apparition de l'HBs Ag . Enfin, les anticorps anti HBs apparaissent après la disparition de l'HBs Ag , témoins de la guérison. Ils peuvent persister plusieurs mois, voire plusieurs années.

- Forme rare de l'hépatite chronique

L'HBs Ag ne disparaît pas et les anti- HBc, témoins de la réplication virale, persistent également. Les anticorps anti-HBs n'apparaissent pas.

- Réponse immune primaire

L'anticorps anti-HBs est le premier marqueur à apparaître ; son taux s'élève rapidement et atteint des titres très élevés qui restent stables pendant des années. Environ 3 semaines après l'apparition des anti HBs, le sujet développe aussi des anticorps anti-HBc dont le titre reste généralement faible. Dans ce type de réponse, il n'y a pas de signe clinique mais on peut observer quelquefois de discrètes anomalies biologiques.

L'anti HBc a peu d'intérêt lorsqu'il est associé à l'HBs Ag ou à l'HBe Ag . Par contre, lorsqu'il se trouve seul dans le sérum, sa signification mérite d'être discutée :

\* il peut s'agir d'un hépatite virale au moment de la " fenêtre sérologique ", se situant entre la disparition de l'HBs Ag et l'apparition de l'anticorps anti HBs.

\* il peut s'agir aussi d'un portage chronique du virus de l'hépatite B avec un taux faible indétectable de l'HBs Ag . Cette 2ème éventualité semble particulièrement faible si l'anticorps anti HBc est présent à un taux élevé sous forme d'IgM [91] .

**TABLEAU N° 2 : Evolution des marqueurs sérologiques de l'hépatite B [33]**

MARQUEURS	EVOLUTION FAVORABLE	EVOLUTION DEFAVORABLE
HBs Ag	Persistance moins de 1 mois	Persistance à un taux élevé au delà de 1 an
Anti HBs	apparition 2 à 3 mois après la négativation de HBs Ag	Absence
Anti HBc	Diminution progressive	Persistance à un taux élevé
HBe Ag	Négativation	Persistance
Anti HBe	Apparition dès la négativation de HBe Ag	Absence
Partic. de DANE	Disparition progressive	Présence

### 3-2 Immunopathogénie

Le virus de l'hépatite B n'est pas directement cytopathogène chez l'homme [101] ; l'infection déclenche simultanément des réponses immunitaires de type humoral et de type cellulaire [40], ce qui permet de retrouver 5 formes de réactions immunologiques [46] :

- une réaction anaphylactique,
- une réaction cytotoxique immune,
- une réaction de complexe immun,
- une immunité à médiation cellulaire,
- une toxicité cellulaire anticorps dépendant.

C'est surtout la réponse immunitaire cellulaire de l'hôte, dirigée contre le virus codé ou les antigènes induits par le virus placé sur la membrane, qui aboutit à la lyse de la cellule infectée. L'HBs Ag a été retrouvé à la surface des hépatocytes pendant la phase prodromique de l'hépatite aiguë et chez les porteurs ayant une fonction normale du foie. Il est rarement retrouvé chez les malades qui ont une hépatite aiguë ou chronique active [101]. La concentration sérique des complexes immuns antigène HBs/anti HBs est la plus forte dans l'hépatite chronique et est responsable des lésions. Des complexes immuns annexés d'Ag sont responsables des prodromes de la maladie et de certains syndrômes extra-hépatiques (vascularite, glomérulite).

L'immunité cellulaire spécifique de l'HBs Ag peut se présenter chez tous les malades récemment guéris d'une hépatite B et elle est détectée in vitro sur les lymphocytes circulant, suivant un certain nombre de tests [40] :

- transformation lymphoblastique en présence d'HBs Ag purifié ;
- inhibition de la migration des macrophages ;
- inhibition de la migration leucocytaire ;
- test de cytotoxicité.

L'absence de cette immunité permet à l'Ag viral, situé sur les cellules, de persister dans l'hépatite chronique et chez les porteurs sains [101]. Du fait qu'une partie des protéines de l'HBs Ag provient de l'hôte, les différentes réponses immunitaires spécifiques de l'HBs Ag sont faibles.

Les antigènes viraux ne sont pas les seuls à induire une réponse immunitaire importante dans la pathogénie des hépatites [46]. MEYER BÜSCHENFELDE a démontré le rôle cible de l'agression immunitaire de certains antigènes membranaires. Ces antigènes sont la LM Ag (liver cell membran antigen) pour l'immunopathogénie des atteintes hépatiques "auto immunes" et la LSP (liver specific protein) pour celle des hépatites aiguës et chroniques, qu'elles soient antigène HBs positives ou négatives.

Des anticorps antinucléaires, antimitochondriens, antimuscle lisses et anti IgM, dont le rôle pathogénique reste à démontrer, sont découverts dans le sérum au cas où aucun marqueur de l'infection de l'hépatite B n'est retrouvé.

### 3-3- Méthodes de détection

La plupart des techniques de laboratoire utilisées en immunologie clinique ont été appliquées au diagnostic de l'hépatite virale B (tableaux 3 et 4) :

**TABEAU N° 3 : Sensibilité relative des techniques de détection de l'antigène HBs**

Niveau de sensibilité	Tests	Sensibilité relative	Quantité mini. d'HBs Ag <sup>†</sup>
1ère génération	Immunodiffusion (ID)	1	10 <sup>13</sup>
2ème génération	Electro-immunodiffusion (EID) Rhéophorèse Fixation du complément (FC) Agglutination passive reverse de particules de latex (APL)	2 - 10	10 <sup>12</sup>
3ème génération	Hémagglutin. passive reverse (HAP) Dosage radio-immunologique (RIA) Dosage immuno-enzymatique (ELISA)	10 <sup>-2</sup> à 10 <sup>-5</sup>	10 <sup>9</sup>
Infectivité	Inoculation au chimpanzé	10 <sup>-6</sup> à 10 <sup>-7</sup>	10 <sup>6</sup>

<sup>†</sup> particules /ml de sérum nécessaires pour la détection

**TABEAU N° 4 : Sélection des principales méthodes de détection des antigènes et des anticorps**

Marqueurs	Tests (par sensibilité relative)	Spécificité relative	Délai de réponse
HBs Ag	ID (x 1)	+++	24-48 h
	EID (x 4)	++	1 h
	APL (x 16-80)	+	0,1 h
	RFC (x 32)	+	2 h
	HAP (x 80-400)	++	1 h
	ELISA (x 2000-4000)	++	4-24 h
	RIA (x 4000)	++	4 h
Anti-HBs	EID (x 1)	+++	1 h
	HAP (x 100-500)	++	2 h
	ELISA (x 500)	++	4-24 h
	RIA (x 1000)	++	24 h
Anti-HBc	EID (x 1)	+++	1 h
	RFC (x 16-64)	+	2 h
	RIA (x 1000)	++	24 h
HBc / Anti-HBc	ID (x 1)	+	14-48 h
	RIA (x 1000)	++	24 h
Anti-delta	RIA	++	24 h
ADN polymérase	Synthèse in vitro d'un ADN radio-actif	++	2- 5 jours
Anti-corps anti-ADN polymérase	Inhibition de cette synthèse	++	2-5 jours

+ : modérée ; ++ : élevée ; +++ : très élevée

La technique utilisée dans le cadre de notre étude est la technique radio-immunologique.

- Principe des tests radio-immunologiques

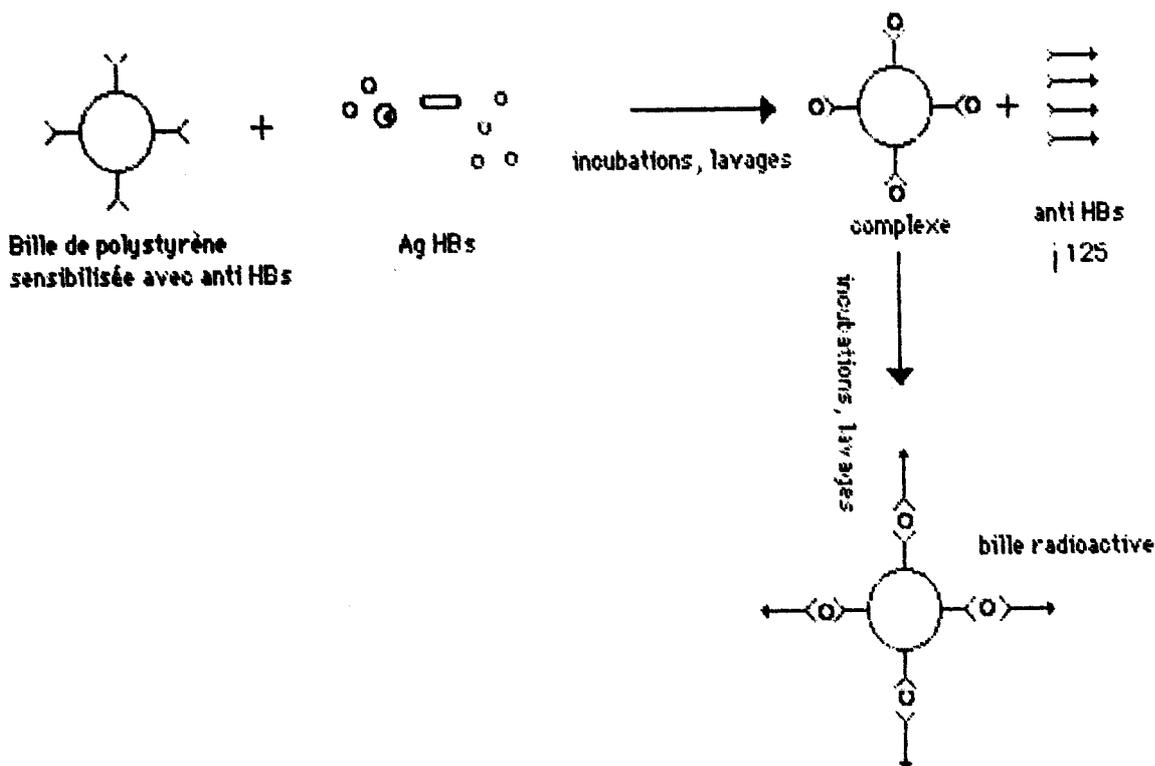
\* test "sandwich" (HBs Ag, anti HBs, HBe Ag)

Ce principe est appliqué dans le test pour la détection d'Ag HBs, d'anti HBs et d'Ag HBe. Le principe étant identique, nous prendrons ici l'exemple de l'Ag HBs.

Dans la trousse du dosage utilisé, la phase solide est constituée d'une bille de polystyrène recouverte d'anticorps de cobaye anti HBs.

L'Ag HBs du sérum se lie à cet anti-HBs. Pour le révéler, on ajoute un réactif constitué d'anti HBs d'origine humaine, hautement spécifique, marqué à l'iode 125

FIGURE 2 : Recherche des anti-HBs par méthode radio-immunologique



La positivité est appréciée en comparant le taux de comptage radio-actif des sérums étudiés et celui du sérum de référence, dépourvu d'Ag HBs. Un sérum est considéré comme positif quand l'activité est supérieure à 2,1 fois celle des témoins négatifs.

Pour la détection des anti HBs, la bille est recouverte d'Ag HBs et le réactif est constitué d'Ag HBs marqué à l'iode 125.

Pour la détection de l'Ag HBs, la bille est recouverte d'anti HBs et le réactif est constitué d'anti HBs marqué à l'iode 125.

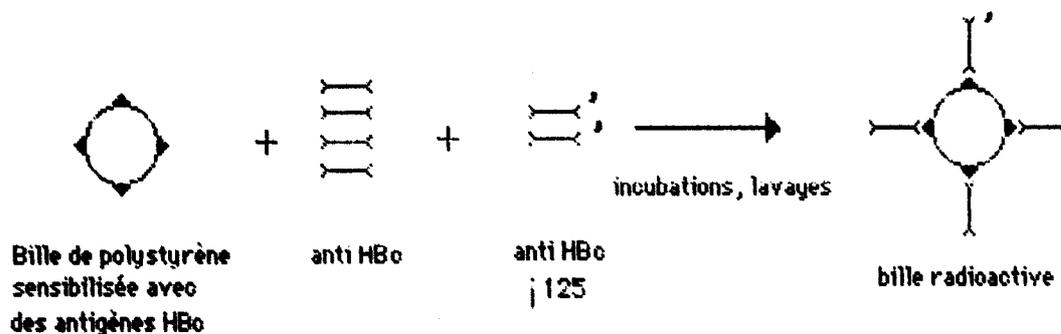
\* test par compétition (anti HBc)

Ce principe est appliqué dans le test pour la détection de l'anti HBc.

La bille de polystyrène est recouverte d'Ag HBc. On ajoute simultanément des aliquotes de sérums à tester et de réactifs constitués d'anticorps anti HBc marqués à l'iode 125.

Les anticorps anti HBc du sérum et les anticorps marqués entrent en compétition pour se fixer sur les antigènes recouvrant la bille.

FIGURE 3 : Recherche des anti-HBc par méthode radio-immunologique



Après lavage, on détermine la radioactivité liée à la bille. Celle-ci est fonction de la quantité d'anticorps marqués fixés, et en raison inverse de la quantité d'anticorps anti HBc présents dans le sérum.

#### 4- Manifestations cliniques de l'hépatite B [78,80]

Les manifestations cliniques de l'hépatite B sont bien connues et offrent peu de particularités en Afrique noire.

##### 4-1 Hépatite virale aiguë commune

Elle évolue classiquement en trois phases : la phase pré-ictérique qui est souvent méconnue et dont le diagnostic est le plus souvent porté lors de l'apparition de l'ictère, sur la coexistence d'un syndrome cytolytique (élévation des transaminases SGPT) et d'un syndrome inflammatoire (élévation des gammaglobulines), associé à l'élévation plus ou moins franche de la bilirubinémie totale, surtout conjuguée. La crise polyurique qui intervient 15 à 20 jours après le début de l'ictère inaugure la convalescence pendant laquelle persistent des troubles dyspeptiques et une asthénie d'assez longue durée.

##### 4-2 Formes frustres ou anictériques

Elles sont fréquentes et souvent méconnues.

#### 4-3 Formes prolongées

Elles sont intéressantes par leurs risques évolutifs.

- Certaines ont un pronostic favorable. Il peut s'agir d'hépatites cytolytiques prolongées simples, ou encore d'hépatites à rechute qui partagent les mêmes modalités évolutives que la forme chronique. Il peut s'agir d'hépatites prolongées cholestatiques, de diagnostic plus délicat, soit cholestatiques d'emblée, soit secondairement cholestatiques ; dans ce dernier cas, la cholestase s'installe après une phase cytolytique banale, l'ictère s'accroît, le prurit apparaît avec des selles décolorées et le foie augmente de volume. Biologiquement la cholestase s'affirme (élévation des phosphatases alcalines sériques, du cholestérol total et de la bilirubine) tandis que la cytolyse s'améliore. La mise en évidence d'HBs Ag et l'opacification rétrograde des voies biliaires par cathétérisme de la papille permettent d'éliminer l'ictère par obstruction.

- D'autres sont plus graves. Ce sont essentiellement les hépatites chroniques qui recouvrent au moins deux entités anatomiques distinctes. D'une part, les hépatites chroniques persistantes, cliniquement latentes, caractérisées par la persistance d'un syndrome biologique de cytolyse et par des lésions histologiques de fibrose, en présence d'infiltrats inflammatoires limités à l'espace porte. Leur potentiel cirrhogène est faible. D'autre part, les hépatites chroniques actives qui, au contraire des précédentes, présentent des signes cliniques d'hépatopathie majeure associés à des manifestations systémiques : un syndrome biologique de cytolyse et un syndrome inflammatoire très intense, avec souvent la présence d'auto-anticorps (anti muscle lisse notamment). Histologiquement, outre les infiltrats inflammatoires, on constate la présence d'îlots de nécrose nombreux, largement étendus autour des espaces portes et des bandes de fibrose unissant en pont espaces portes et veines centrolobulaires. Le risque cirrhogène de cette hépatite est majeur et rapide.

#### 4-4 Formes aigües et sur-aigües

Elles réalisent l'hépatite fulminante et sont les plus graves à court terme. Elles revêtent deux aspects principaux : soit l'ictère grave d'emblée ou atrophie jaune aigüe du foie de Laennec, soit l'ictère secondairement aggravé au cours d'une évolution qui paraissait banale. Le pronostic dans les deux cas est presque toujours fatal (80%). Ces formes graves se caractérisent cliniquement par l'intensité d'un syndrome cytolytique, l'apparition d'un syndrome hémorragique et de manifestations neurologiques de type encéphalitique qui évoluent rapidement vers la mort dans un tableau de coma hépatique [78].

#### 4-5 Un cas particulier : la forme de la femme enceinte

L'hépatite exerce sur le déroulement de la grossesse une influence défavorable et peut être responsable d'accouchement prématuré ou d'hémorragie de la délivrance. Sur le fœtus, le risque de malformation est nul. La transmission verticale de l'hépatite B est nul si la maladie

survient au premier trimestre de la grossesse. Il est de 20 à 30 % si elle survient au deuxième trimestre, et de 80% au troisième trimestre.

#### 4-6 Diagnostic de l'hépatite B

Le diagnostic repose sur des arguments épidémiologiques, cliniques, biologiques et évolutifs. Ces derniers permettent d'apprécier les degrés des syndrômes rétentionnels, l'intensité du syndrôme de cytolysé, l'insuffisance cellulaire et l'importance du syndrôme inflammatoire. La ponction biopsie du foie ne peut être pratiquée sous contrôle laparoscopique pour suivre l'évolution de ces hépatites, que si le taux de prothrombine est supérieur à 60% [33,80].

## EPIDEMIOLOGIE DE L'HEPATITE B

### 1 Prévalence comparative des marqueurs sériques de l'hépatite B :

Une hépatite sur quatre est une hépatite aiguë. Une hépatite sur 20 entraîne une hospitalisation. Une hépatite sur 1 000 est une forme fulminante, souvent fatale. 10% des hépatites aiguës ou asymptomatiques passent à la chronicité (persistance de HBs Ag plus de 6 mois). Un porteur chronique sur 4 développe une hépatite chronique active conduisant à la cirrhose ou à l'hépatome.

On distingue actuellement à la surface du globe trois situations épidémiologiques évaluées par le taux de portage chronique de HBs Ag.

- une zone de faible endémie, de 0,1 à 0,5% : Australie, Amérique du Nord, Europe de l'Est
- une zone de moyenne endémie, de 2 à 7% : Europe de l'Est, U.R.S.S, pays méditerranéens et

Proche Orient.

- une zone de haute endémie, de 8 à 15% : Afrique sub-saharienne, Asie du Sud-Est, Chine méridionale.

La prévalence de l'infection (nombre de sujets ayant rencontré le virus) varie de 6% dans les zones de faible endémie jusqu'à 70 à 95% dans les zones de haute endémie. De plus, dans une même zone, on remarque que la fréquence est inversement proportionnelle au niveau socio-économique [96].

Trois particularités individualisent l'épidémiologie du virus de l'hépatite B en Afrique noire.

- la précocité de la contamination
- le caractère quasi obligatoire de l'infection
- la fréquence exceptionnelle des portages chroniques [91].

#### 1-1 Les enquêtes classiques :

Faites par des techniques peu sensibles (ID, EID) elles sont cependant très démonstratives :

**TABLEAU N° 5 : Prévalence de l'HBs Ag dans certaines zones d'Afrique et du monde [34].**

Pays	HBs Ag +	Prévalence %	Auteurs	Pays	HBs Ag +	Prévalence %	Auteurs
Centrafrique	2/210	0,9	Prince	Mali	248/2624	9,5	Sidibé
Mozambique	1/100	1,0	Prince	Mauritanie	10 / 92	10,9	Diebolt
Tunisie	280/15982	1,9	Bouquera	Guinée	8 / 71	11,3	Diebolt
Nigéria	2 / 90	1,9	Prince	Sénégal	610/5015	12,6	Diebolt
Ouganda	6/311	5,6	Prince	Sénégal	286/2271	12,6	Darasse
Côte d'Ivoire	15/266	6,0	Diebolt	Burkina Faso	30/219	13,7	Diebolt
Bénin	40/603	6,0	Linhard	Niger	9 / 60	15,0	Linhard
Ghana	6/100	6,0	Prince	France	942/315054	0,3	Cazel
Angola	6/100	6,0	Prince	USA	55/58956	0,1	Prince
Mali	27/296	9,1	Prince	Japon	105/5239	2,0	Okochi

Les prévalences les plus élevées se rencontrent en Afrique de l'Ouest, en particulier dans la zone sahélienne (Sénégal, Mali, Niger, Burkina Faso). Les pays forestiers semblent moins touchés, ce qui suggère l'intervention de facteurs écologiques dans l'épidémiologie de HBV. Quoiqu'il en soit, il apparaît clairement que l'Afrique a une prévalence très élevée du HBV.

### 1-2 Les enquêtes modernes :

Faites par des méthodes sensibles, elles assombrissent encore le tableau.

L'étude de BARIN, MAUPAS et coll. dans la zone de Niakar au Sénégal est intéressante car elle précise parfaitement la date de la contamination par le HBV.

- à la naissance les nouveaux-nés porteurs de HBs Ag sont exceptionnels, mais 95% possèdent des anticorps d'origine maternelle (anti HBs et/ou anti HBc qui à cet âge n'a évidemment pas de signification d'un marqueur de réplication).

Vers l'âge de 1 an les anticorps maternels ont pratiquement disparus et la contamination devient de plus en plus fréquente : à 1 an près de 10 % des enfants sont porteurs de HBs Ag, 17% à 2 ans, 32 % à 6-7ans, à 13 ans 91,2% de la population a déjà été en contact avec le HBV. 11,8% sont porteurs d'HBs Ag et plus de 30% des marqueurs de réplication virale.

On ne saurait trop souligner la précocité de la contamination qui se fait dans plus de 50% des cas avant 2 ans et dans plus de 90% des cas avant 13 ans [63].

### 2 Sous-types de HBs Ag : répartition géographique et aspects épidémiologiques :

La distribution géographique des sous-types de HBs Ag a pu être établie par l'étude des porteurs asymptomatiques de HBs Ag des différentes régions du monde [28].

Le sous-type dépend de la souche du virus et non de l'hôte, il souligne l'intérêt épidémiologique qu'offre la détermination des sous-types de HBs Ag [59-41].

L'hétérogénéité de HBs Ag a été démontrée en 1969 [61] ; une année après que l'Ag Australia fut reconnu être spécifique du virus de l'hépatite B [11-83]. Mais, ce n'est qu'en 1971, que l'existence de déterminants d' HBs Ag fut clairement établie et que différents sous-types furent décrits [51-58].

Le sous-type a<sub>3</sub> yw est le plus fréquent en Afrique occidentale et centrale, alors que le sous-type a<sub>2</sub> ldw prédomine en France [32] ; ayr n'existe pratiquement qu'au Vietnam, le sous-type le plus répandu dans le monde semble être a<sub>2</sub> ldw.

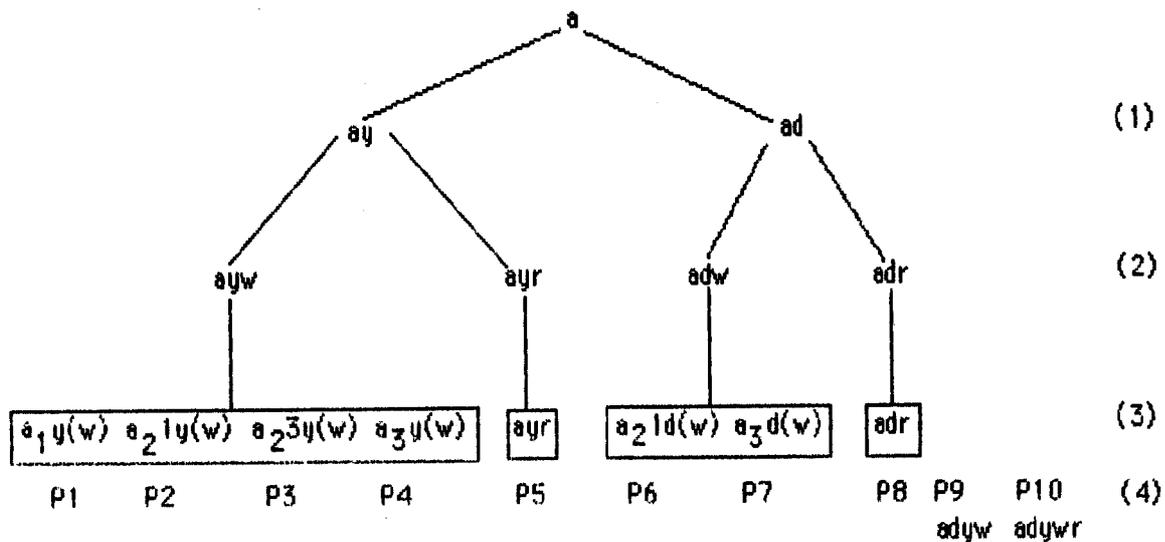
En Afrique occidentale le sous-type a<sub>3</sub>yw est largement prédominant par rapport aux autres, mais au Sénégal, le sous-type a<sub>2</sub> 1yw présente une proportion qui n'est pas négligeable.

En Afrique centrale, les deux sous-types qui prédominent sont a<sub>3</sub> yw et a<sub>2</sub> 1yw, avec un pourcentage plus important pour le premier.

Les autres sous-types sont très rares [31].

De nombreux exemples montrent que le sous-type de HBs Ag est un marqueur épidémiologique puisqu'il semble dépendre du virus et non de l'hôte [67].

FIGURE 4 : sous-types de l'antigène HBs, selon SOULIER et coll. [94]



- (1) LE BOUVIER, 1971  
 (2) BANCROFT, 1972  
 (3) SOULIER & COUROUCE, 1973  
 (4) WORKSHOP - PARIS, 1975

TABLEAU N° 6 : Répartition géographique des sous-types de l'antigène HBs

REGIONS	a1.y(w)	a2.1y(w)	a2.3y(w)	a3.y(w)	ayr	a2.1d(w)	a3.d(w)	adr	TOTAL
France	-	31	52	4	-	229	4	6	326
Pays-Bas	-	-	5	-	-	17	-	1	23
Hongrie	-	13	14	-	-	47	-	-	74
Roumanie	-	33	7	-	-	10	-	-	50
Espagne	-	1	3	-	-	4	-	-	8
Grèce	-	23	29	-	-	2	-	-	54
Italie. Afr. Nord	-	33	6	-	-	8	-	-	47
Proche, My Orient	-	5	1	-	-	1	-	-	7
Mauritanie, Sahara	-	22	1	9	-	3	-	-	35
Afr. Occid. Centrale	4	62	-	208	-	10	-	-	284
Afr. Est et Sud	1	8	16	3	-	139	-	-	167
Antilles	1	4	-	1	-	58	2	-	66
Laos, Japon	-	-	-	-	-	3	-	22	25
Vietnam	8	-	-	-	-	2	-	-	11
TOTAL	14	235	134	225	1	533	6	29	1177

### 3 Enquête sérologique de l'hépatite B au Mali :

#### 3-1 Zone rurale :

- A Sélingué : la prévalence brute est de 8,7%, la prévalence standardisée du portage chronique est de 8,5%. Rappelons que la prévalence standardisée d'une affection est celle qu'elle aurait si la population étudiée avait la même composition démographique qu'une population "standard" prise comme norme (à Sélingué, c'est l'ensemble de la population du Mali d'après le recensement de 1976).

Cette standardisation est nécessaire pour comparer les résultats d'une enquête menée sur différentes populations dont la composition démographique est différente et si la fréquence de l'affection dépend de l'âge et du sexe comme c'est le cas de l'hépatite B.

A Sélingué l'étude avait porté sur une population rurale non sélectionnée dans le cadre d'une enquête de masse. Un dépistage systématique de HBs Ag par la méthode de C.E.P. effectué sur 1860 personnes avait montré [91] :

- \* les sujets entrent très tôt en contact avec le virus de l'hépatite B; 9,7% des sujets sont déjà infectés avant l'âge de 1 an, d'où la précocité de la transmission. Statistiquement l'augmentation de la prévalence du portage chronique de HBs Ag avant 14 ans n'est pas significative, cependant on a une baisse progressive à partir de 15 ans qui est statistiquement significative.

- \* le portage chronique affecte beaucoup plus les hommes (10,5%) que les femmes (7,1%). La différence est statistiquement significative.

- \* la prévalence est plus élevée chez les Malinkés (11%) que chez les Peulhs (7,4%) et les Bambaras (9,9%). Ces différences sont statistiquement significatives. Par contre il n'existe pas de différence significative entre le portage chez les Bambaras et les Peulhs.

- \* de constater une importante variation de la prévalence parmi les 14 villages étudiés après standardisation pratique du simple (4,3%) au triple (12,5%). Cela suggère l'existence de facteurs locaux favorisant soit la transmission de l'hépatite soit l'évolution vers le portage chronique. Ceci souligne aussi en clair l'importance d'effectuer des enquêtes épidémiologiques sur plusieurs villages, car un seul d'entre eux ne reflète en rien la situation de l'ensemble de la zone.

#### - Zone de Kita-Bafoulabe-Kenieba (KBK) :

Dans la zone de KBK l'étude avait porté aussi sur une population rurale non sélectionnée, toujours dans le cadre d'une enquête de masse sur 2682 personnes; cette enquête avait montré que :

- \* la prévalence globale du portage de HBs Ag est de 7,9% + ou - 1, après standardisation la prévalence ajustée est de 8% + ou - 1. Ces chiffres sont d'autant plus impressionnants que la technique de dépistage utilisée (C.E.P.) est relativement peu sensible. Avec des méthodes de 3ème

génération (RIA, Elisa) on aurait sans doute trouvé un taux de prévalence nettement plus élevé [38].

\* comme dans le cas de Sélougué, les sujets entrent très tôt en contact avec le virus, 8% des sujets sont en contact avec le virus avant 4 ans, une augmentation de cette prévalence jusqu'à 14 ans et après une diminution progressive après 15 ans. Cette différence est également statistiquement significative.

\* le portage chronique affecte beaucoup plus les hommes (9,5%) que les femmes (6,5%) une différence statistiquement significative.

\* la prévalence la plus élevée se retrouve chez les Sarakolés (8,8%), Bambaras (8,6%), Dialonkés (8,7%) et les Kassonkés (8,2%) ensuite viennent les Malinkés (7,8%) et surtout les Peulhs (5,4%) en dernière position.

\* une importante variation de la prévalence parmi les 15 villages étudiés de 3,1% à 12,6% [38].

### 3-2 Zones urbaines (Bamako) :

#### - Au Centre National de Transfusion sanguine (CNTS) :

Une enquête sur le portage chronique de HBs Ag par la C.E.P. chez 764 sujets explorés au CNTS de Bamako avait montré une prévalence globale de 11,2%.

\* la prévalence du portage chronique de HBs Ag semble plus élevée chez les hommes (13,7%) que chez les femmes (9,6%)

\* elle est plus élevée chez les sujets de moins de 35 ans que les sujets plus âgés, cette différence est statistiquement significative

\* la prévalence est de 13% chez les Malinkés, 11% chez les Bambaras et les Peulhs

#### - Etude des marqueurs sériques de l'hépatite B chez 176 bamakois sains :

Cette étude menée grâce au Professeur Maupas et coll. [64] a porté sur 176 sujets dont 173 de plus de 10 ans. Elle apporte des renseignements essentiels sur l'épidémiologie de l'hépatite B à Bamako.

\* Etude de la prévalence des marqueurs classiques : par marqueur classique, ont été étudiés l'HBs Ag, l'anti HBc et l'anti HBs dont la signification est maintenant bien établie.

Cinq sujets sur 176 (2,8%) ne sont porteurs d'aucun de ces trois marqueurs : c'est assez dire que l'hépatite B est une affection pratiquement obligatoire à Bamako.

Soixante sujets sur 176 (34,1%) sont porteurs de l'anti HBc seul, dont 89 des sujets soit 50,6% sont des porteurs de HBs Ag et/ou de anti HBc, c'est-à-dire des marqueurs de répllication active du virus de l'hépatite B.

82 sujets sur 176 (46,6%) sont porteurs de l'anti HBs (avec ou sans anti HBc) et peuvent être considérés comme guéris de leur hépatite.

\* variation de la prévalence des marqueurs en fonction du sexe : on constate une prévalence plus élevée de HBs Ag chez les hommes que chez les femmes alors que pour l'anti HBc seul et l'anti HBs la prévalence est plus élevée chez les femmes que chez les hommes.

\* variation de la prévalence des marqueurs en fonction de l'âge : cette étude a permis de montrer que :

- dès 20 ans presque tous les sujets ont été contaminés
- la prévalence des porteurs de HBs Ag décroît à partir de 30 ans
- la prévalence des porteurs de l'anti HBs n'augmente qu'à partir de 40 ans.
- entre 30 et 40 ans il semble que la prévalence élevée des porteurs de l'anti HBc seul correspond à des portages chroniques de HBs Ag à des taux faibles indétectables [99].

#### 4 Autres enquêtes en Afrique de l'Ouest :

##### 4-1 Au Sénégal :

- Une enquête a été réalisée dans l'arrondissement de Niakar (Sine Saloun) dans un paysage de savane arbustive sur une population rurale d'enfants appartenant à l'ethnie Serer. Les activités essentielles de la population sont d'une part la culture du mil et de l'arachide, et d'autre part, l'entretien d'un important troupeau. HBs Ag a été recherché par la technique d'ID engel d'agarose sur les 1 182 enfants de 8 villages non sélectionnés; les résultats ont permis de montrer que avant 2 ans 10,3% des enfants sont déjà infectés d'où la précocité de la transmission, et 17,4% à l'âge de 9 ans [12].

Suivant les villages on a une prévalence qui va de 7,1% à 16%.

- Une autre enquête menée dans plusieurs régions du Sénégal sur 12 005 personnes, sans distinction de sexe, d'âge ou de race, en utilisant la technique d'électrosynérèse en tampon discontinu, ont permis de constater que HBs Ag est beaucoup plus fréquent chez les hommes (11,1% ± 0,8) que chez les femmes (7% ± 0,6). Inversement les anticorps anti HBs sont plus fréquents chez les sujets féminins (0,31%) que chez les sujets masculins (0,11%).

La répartition ethnique est hétérogène, les Mandjacks (6,1%) Toucouleurs (7,5%) Peulhs (7,8%) Mankagnes (7,9%) Bassiri et Ouolof (9,6%) Maures et Diolas (9,7%) Sereres (10,2%) Sarakolés (14,8%) [79].

- Au cours d'une enquête systématique portant sur 1 069 malades hospitalisés à Dakar, le dépistage par la méthode d'ID a montré 94 porteurs d'HBs Ag soit une fréquence de 8,8% et 6 porteurs d'anti HBs soit environ 0,6% [8].

##### 4-2 Au Niger :

Les marqueurs furent cherchés par la technique RIA (Abbot) dans 2 villages situés à 80 km de Niamey et chez des enfants âgés de 8 à 11 ans fréquentant 2 classes d'une école de Niamey. Les résultats ont permis de constater que 19% des sujets sont porteurs de HBs Ag, 53% de

l'anticorps anti HBs ; parmi les 28% des sujets ne possédant ni antigène ni anticorps, 10 sont porteurs de l'anticorps anti HBc seul, 18% des sujets ne sont porteurs d'aucun de ces marqueurs.

Les plus fortes prévalences de HBs Ag sont observées dans l'enfance. Par ailleurs cet antigène est significativement plus fréquent chez les hommes (24%) que chez les femmes (15%), tandis que l'anticorps anti HBs est plus fréquent chez les femmes (56%) que chez les hommes (49%) [93].

### 5 Facteurs favorisant le portage chronique :

Une prévalence aussi élevée de porteurs chroniques de HBs Ag dans les pays africains incite à s'interroger sur les raisons qui peuvent l'expliquer. Plusieurs types de corrélation peuvent être étudiés.

#### 5-1 Facteurs génétiques :

A Sélengué, l'étude a porté uniquement sur le type hémoglobinique et le glucose 6 phosphate déshydrogénase G6PD.

\* aucun type hémoglobinique ne semble favoriser le portage chronique de HBs Ag dont la prévalence ne diffère pas statistiquement chez les sujets AA, AS, AC, AF.

\* les sujets présentant un déficit en G 6PD semblent par contre être plus souvent porteurs chroniques de HBs Ag que les autres : la différence est statistiquement significative. On a pu conclure que l'enzyme déficitaire présente dans la population étudiée à Sélengué favorise le portage chronique de HBs Ag. Mais il n'est pas certain que ce phénomène soit constant avec toutes les enzymes déficitaires.

#### 5-2 "Grappes familiales" :

Les études ont permis de remarquer très fréquemment la coexistence de nombreux porteurs de HBs Ag dans une même "famille". Mais en l'absence d'une étude précise de degrés de parenté, il est difficile de dire s'il s'agit d'un facteur génétique ou d'un facteur d'environnement.

#### 5-3 Fréquence de la présence de HBs Ag dans la descendance des couples selon que le père ou la mère est positif :

Une série d'études a montré que la fréquence de HBs Ag est plus élevée dans la descendance des couples dont la mère est HBs Ag positif et le père HBs Ag négatif que dans ceux où le père est HBs Ag positif et la mère HBs Ag négatif [6-17-19-86].

## 6 Tentatives d'explication du profil épidémiologique de l'hépatite B

### 6-1 Transmissions particulières :

- Transmission parentérale : elle est connue depuis longtemps et a valu à l'hépatite le nom d'hépatite transfusionnelle, d'ictère de la seringue. Elle joue à l'évidence un rôle important au Mali, où même si les transfusions ne sont pas exceptionnelles, les injections parentérales sont trop généralisées.

Rappelons que la vaccination de masse par le B.C.G. n'explique pas la grande fréquence de porteurs de HBs Ag. Quant aux scarifications rituelles ou thérapeutiques traditionnelles, elles ne jouent probablement qu'un rôle marginal [18].

- Transmission par vecteur :

Elle a été souvent envisagée. HBs Ag a été mis en évidence chez de nombreux arthropodes hématophages [108] mais ce n'est que chez les punaises du lit [107] Cumex lecturalis qu'on a pu faire la preuve d'une répllication virale au niveau du tube digestif. Tous les autres arthropodes hématophages ne constituent que des vecteurs passifs, donc à priori inefficaces.

- Transmission directe homme à homme :

Elle semble en fait la plus probable; en effet on a trouvé HBs Ag (mais non des virions complets) dans toutes les sécrétions humaines (selles, urines, lait, spermes, sécrétions vaginales, salive, sueur) [7-106]. Dans ces conditions, il est très facile d'envisager une transmission intra humaine directe analogue à celle de l'hépatite A.

Cette transmission inter humaine directe explique la fréquence des HBV dans les collectivités à hygiène rudimentaire. Elle rend compte également de la prévalence élevée de HBV chez les prostituées, les homosexuels en Europe et aux Etats Unis. En Afrique, la prévalence plus élevée en zone urbaine que rurale s'explique par la promiscuité plus grande en ville qu'à la campagne [91].

- Contamination péri-natale :

Elle semble jouer un rôle essentiel :

\* la transmission trans-placentaire est exceptionnelle en Afrique, à l'inverse de ce qui se passe dans certains pays d'Asie comme le Taiwan. Il semblerait que les mères les plus dangereuses pour leurs enfants soient celles qui possèdent non seulement HBs Ag mais aussi HBe Ag.

\* la transmission se ferait le plus souvent en réalité que après la naissance. Les mères porteuses chroniques de HBs Ag (surtout celles qui ont aussi HBe Ag) élimineraient des virus dans leur lait, leur sueur etc... Elles risquent de contaminer aisément alors leurs nourrissons en contact permanent avec elles.

\* que la contamination se fasse pendant la vie foetale, à la naissance ou peu après, l'enfant aux défenses immunitaires encore immatures, serait incapable de s'opposer à la

multiplication de HBV et devient ainsi un porteur chronique.

#### 6-2 Terrains particuliers :

- Facteur racial : il est évident . La fréquence du portage chronique est très supérieure chez les Noirs et les Jaunes que les Caucasiens et cela, quel que soit leur lieu d'habitation.
- Facteur génétique : il a été envisagé très tôt par Blumberg. Si l'hypothèse qui faisait que HBs Ag un gène récessif est actuellement abandonné, il existe des agrégats familiaux (familial clustering) où la prévalence du portage chronique est anormalement élevée, il ne semble pas s'agir uniquement d'une transmission particulièrement intense dans une collectivité vivant en promiscuité, mais bien d'un véritable facteur génétique puisque les épouses sont épargnées par cette forte prévalence du portage chronique. L'association portage chronique de HBV à certains marqueurs génétiques constitue un argument plus solide en faveur du rôle de l'hérédité [16] .
- Facteurs nutritionnels : ils ont également été discutés . Certains auteurs pensent que la malnutrition protéino-calorique de l'enfance est responsable de certains déficits immunitaires permettant la poursuite de la réplication virale.
- La Lèpre : la lèpre, et d'une manière générale toutes les maladies où il existe une immuno-dépression, s'associent à un portage de HBV particulièrement important.
- Facteur hormonal : il intervient aussi sûrement puisque le portage chronique de HBs Ag est plus fréquent sur toutes les latitudes chez les hommes que chez les femmes [20].

## PREVENTION DE L'HEPATITE B PAR LA VACCINATION

L'objectif général de la vaccination est la réduction de la morbidité et de la mortalité dues aux maladies infectieuses (maladies cibles) sévissant à l'état endémo-épidémique et qui constituent un problème prioritaire de santé publique. Cet objectif serait obtenu par l'immunisation permanente des sujets les plus exposés (population cible) en associant les vaccins de façon à diminuer le coût de l'action [103].

### 1 Les deux types de vaccins disponibles

#### 1-1 Vaccin d'origine plasmatisque

Il est obtenu à partir du plasma de porteurs sains d' HBs Ag, c'est à dire des sujets infectés qui ne synthétisent que l'antigène, sans développer de maladie hépatique ni clinique, ni biologique. L'antigène vaccinant n'est pas un virus inactivé ou vivant atténué, mais une fraction virale correspondant à l'enveloppe porteuse d' HBs Ag . Ce sont des vaccins hautement purifiés. L'absence de virus HIV, de rétrovirus, de contamination syphilitique ou tuberculeuse est vérifiée par de nombreux contrôles pratiqués sur les plasma utilisés [50].

#### 1-2 Vaccins produits par génie-génétique

Ces vaccins font appel aux recombinaisons génétiques. La première étape est la sélection de la fraction du génome codant pour les protéines de l'enveloppe HBs Ag ; celle-ci est transplantée dans une cellule hôte : bactérie (Escherichia coli), levure ou cellule de mammifère. En se répliquant, la cellule hôte reproduit les protéines correspondant aux fragments du génome HBV transplanté.

TABLEAU N° 7 : Fabricants de vaccins anti-HBV en 1988 [15]

Etablissement	Pays	Vaccin plasmatisque		Vaccin recombinant	
		homologué	Essai sur l'homme	homologué	Essai sur l'homme
Pasteur	France	oui	oui	non	?
Merck	USA	oui	oui	oui	oui
Kitasato †	Japon	oui	oui	non	?
Croix-verte †	Japon	oui	oui	non	?
Life Guard †	Taiwan	oui	oui	non	non
Croix-verte ††	Rép. de Corée	oui	oui	non	-
Cheil Sugar	Rép. de Corée	oui	oui	-	-
4 firmes ††	Chine	oui	oui	-	-
SKF-RITT	Belgique	-	-	oui	oui

† procédé de fabrication ≈ procédé Pasteur ; †† procédé de fabrication ≈ procédé Merck.

A côté de ces 2 types, les vaccins polypeptidiques ne sont encore qu'au stade expérimental. Leur intérêt théorique serait de pouvoir être produits en grande quantité, à un coût très faible.

## 2 Procédé de fabrication du vaccin d'origine plasmatisque [39]

L'Hévac B Pasteur a été mis au point avec un double souci d'assurer une sécurité totale et de maintenir l'antigène de surface du virus de l'hépatite B dans un état natif. En effet, HBs Ag comprend des polypeptides constitutifs très vulnérables aux traitements agressifs : les protéines pré-S [71]. Tout traitement susceptible d'altérer la structure polypeptidique de HBs Ag se devait par conséquent d'être évitée [2].

Cette double contrainte a conduit à la mise au point d'un procédé de fabrication originale et très sophistiquée incluant trois étapes principales :

- la sélection de plasma très peu infectieux
- la purification exclusive de HBs Ag par des techniques non agressives
- des mesures d'inactivation non agressives à titre de précaution supplémentaire.

### 2-1 Sélection des plasma

Elle est effectuée en fonction de deux critères :

- degré d'infectivité minimale,
- inclusion systématique des deux sous-types ad et ay de HBs Ag.

La sélection des plasma particulièrement peu infectieux s'opère par le biais des critères d'exclusion supplémentaires à ceux recommandés par l'OMS [77] et spécifiquement pratiquée par Hévac B Pasteur en particulier.

- HBe Ag négatif
- anti-HIV négatif (depuis le 1er août 1985)
- activité reverse-transcriptase négative : il s'agit d'un test permettant d'exclure la présence de rétrovirus dont l'agent du Sida, et peut-être, de l'agent de l'hépatite C, pratiqué sur tous les lots depuis le 1er lot du vaccin. Ces tests, spécifiques à l'Hévac B Pasteur, permettent la sélection du plasma dont l'infectivité totale ne peut être supérieure à  $10^4$  unités infectieuses par millilitre.

De plus, la détermination du sous-type de HBs Ag est effectuée sur chaque plasma. Les plasma contenant HBs Ag de sous-type ad sont regroupés et traités séparément des plasma du sous-type ay tout au long du procédé de fabrication. Ce n'est qu'au stade final de la production que les préparations d'HBs Ag purifiées et inactivées de chaque sous-type sont mélangées en quantité bien définie. Ceci permet l'obtention d'un vaccin final contenant toujours les deux sous-types d'HBs Ag, afin d'assurer une couverture immunitaire optimale [74].

### 2-2 Purification de HBs Ag

Le principe de base du procédé de fabrication de Hévac B Pasteur repose sur l'élimination totale des protéines plasmatisques et de tout virus susceptible d'être véhiculé par le plasma. Des

techniques non agressives, faisant appel aux propriétés physico-chimiques de HBs Ag sont mises à profit en faveur de l'obtention d'une préparation finale tout à fait sûre, constituée exclusivement de HBs Ag, sans aucune altération de la structure polypeptidique de HBs Ag. La purification s'effectue en 6 étapes principales (ainsi que de nombreuses étapes intermédiaires de filtrations stérilisantes) dont deux fractionnements en polyéthylène glycol (PEG) et 4 ultracentrifugations zonales.

- fractionnement au PEG : les deux étapes de fractionnement au PEG permettent l'élimination effective des immuno-complexes et des lipoprotéines [1]. Elles sont également en mesure d'éliminer les parasites et les bactéries, bien qu'il soit exclu d'en trouver dans des plasma soigneusement contrôlés. De plus, lorsqu'on contamine expérimentalement des plasma avec des virus (Herpès-virus, SHV1, virus de la rougeole, de la rage, de la poliomyélite, de la fièvre jaune) il a été démontré que 99,9% au moins des unités infectieuses sont éliminées lors du fractionnement au PEG [1].

- ultracentrifugation zonale : 4 ultracentrifugations zonales sont effectuées dont successivement deux, sur gradient de saccharose et deux sur gradient de chlorure de césium. Cette technique extrêmement sophistiquée permet de séparer HBs Ag des protéines plasmatiques et de tout virus susceptible d'être véhiculé par le plasma grâce à des propriétés de taille et de densité tout à fait uniques à HBs Ag. Les deux premières ultracentrifugations zonales séparent les particules en fonction de leur vitesse de sédimentation, les deux dernières séparent les particules en fonction de leur densité respective. Les particules HBs Ag occupent une position tout à fait particulière (densité > 1,20 et vitesse de sédimentation 40 S) qui permet sa purification à l'exclusion de toute autre particule susceptible d'être véhiculée par le plasma.

### 2-3 Procédé d'inactivation

La préparation est mise en contact avec deux agents inactivants : le chlorure de césium et le formol. En effet le chlorure de césium utilisé lors des dernières centrifugations zonales a un effet chaotrope qui permet l'inactivation de nombreux virus dont l'inactivation totale des VIH, agents du Sida. De plus, la préparation d'HBs Ag purifié est mise en contact avec une solution de formaldéhyde, agent inactivant largement reconnu.

Lorsque l'on additionne l'effet de réduction d'unités infectieuses consécutif aux 6 étapes de purification et au traitement du formol, il apparaît que le procédé de fabrication permet l'élimination et/ou l'inactivation de  $10^{17}$  à  $10^{25}$  unités infectieuses virales tandis que les plasma sont sélectionnés de telle sorte qu'ils ne peuvent pas contenir plus de  $10^4$  unités infectieuses de départ.

### 2-4 Contrôles de sécurité

Au cours de la préparation, de très nombreux contrôles sont effectués. Il est intéressant de relever parmi ces contrôles la recherche du HBV (DNA viral, témoin de la présence du virus de l'hépatite B) et la recherche réitérée d'activité reverse-transcriptase, après la dernière centrifugation zonale, sur les préparations purifiées et très concentrées de HBs Ag. Ces contrôles, pratiqués avant traitement au formol, doivent être négatifs. De plus, tous les lots depuis le premier, sont testés sur les chimpanzés, assurance finale de sécurité du vaccin. Il est à noter que les sérums de chimpanzés ont fait l'objet d'une recherche rétrospective d'anticorps anti LAY/HTLY III : elle s'est révélée négative sur tous les sérums testés [92], démontrant ainsi l'absence de risque de contamination par le virus LAY/HTLY III par le biais de la vaccination contre l'hépatite B.

TABLEAU N° 8 : Principaux contrôles effectués en cours de fabrication de l'Hevac B Pasteur [4].

TESTS DE CONTROLE	Plasma	HBs Ag monovalent ad ou ay	Mélange HBs Ag bivalent ad ay	Vaccin final inactivé
<b>INNOCUITE</b>				
HBV DNA	X	X		
Reverse transcriptase	X		X	
HBe Ag négatif	X			
HIY négatifs	X			
Sérologie syphylis	X			
Mycobact. tuberculosis	X			
Transaminases	X			
Contrôle de stérilité	X	X	X	X
Endotoxine et pyrogène				X
Inoculation au chimpanzé	X		X	X
<b>PURETE</b>				
Titre d'HBs Ag	X	X	X	
Sous-types ad et ay	X	X		
Spectre UV		X		
Electrophorèse GPA		X		
Extraction des protéines		X		

En conclusion, le procédé de fabrication du vaccin Hévac B Pasteur permet l'obtention d' HBs Ag totalement purifié à l'exclusion de toutes particules virales susceptibles d'être véhiculées par le plasma en particulier les VIH, agents du Sida. De plus, les techniques employées évitent le recours à des méthodes d'inactivation agressives, telles que traitements enzymatiques, variation de pH, chauffage, susceptibles d'altérer la structure polypeptidique de HBs Ag, en particulier les protéines pré-S très vulnérables aux traitements agressifs, qui sont retrouvées intactes dans la préparation finale. Des récents travaux [71] tendent à montrer l'importance de l'inclusion (ou de l'absence de destruction) des protéines pré-S pour l'induction d'une immunité optimale.

Ceci démontre l'importance du procédé de fabrication pour l'obtention d'un vaccin contre l'hépatite B à la fois sûr et d'une qualité antigénique optimale.

### 3 Rôle et importance de l'antigène pré-S [3]

HBs Ag est une mosaïque d'épitopes, ou site antigénique, l'enveloppe virale HBs Ag est donc codée par trois protéines distinctes dans l'ordre S, S2 et S1 [68].

Ces trois protéines ont en commun la séquence de 226 amino-acides de la protéine S ; les protéines pré-S contiennent au moins un déterminant antigénique qui n'est pas retrouvé sur les protéines S :

- la protéine S, aussi appelée protéine majeure, est la plus résistante. C'est elle qu'on trouve en plus grande quantité sur les segments d'enveloppe virale dans les plasma des porteurs de HBV.
- la protéine pré-S2 est la protéine moyenne. On la retrouve en assez grande quantité en compagnie de la protéine S.
- la protéine pré-S1, quant à elle, est appelée grande protéine, son poids moléculaire étant plus élevé. On la trouve le plus souvent en présence du virus complet.

Contrairement aux protéines S, les protéines pré-S sont très vulnérables aux agressions diverses : chaleur, enzymes, dénaturation chimique [73]. En effet lors d'une infection par HBV, suivie d'une guérison, les protéines pré-S apparaissent très tôt. Elles permettent de neutraliser le virus de l'hépatite B in vivo [72].

Les anticorps pré-S empêchent la fixation de HBV à la surface des cellules hépatiques, mais il ne semble pas que les anti pré-S apparaissent lors d'une infection chronique [22]. Des travaux effectués par Neurah et coll. ont montré que les pré-S sont 400 fois plus efficaces pour l'induction d'anticorps anti HBs qu'un polypeptide synthétique d'un fragment du gène S.

Il apparaît ainsi que la présence de protéines pré-S dans le vaccin actuellement commercialisé par Pasteur vaccins explique ses qualités immunogènes et la dose relativement faible que l'on peut utiliser [48].

## METHODOLOGIE

### 1- Lieu de l'essai

L'étude est réalisée en milieu rural dans une zone de savane arbustive, située à une centaine de kilomètres à l'ouest de la capitale (cf carte).

La zone et les villages retenus ne sont pas été tirés au sort, mais sélectionnés sur des critères de choix raisonnés, tenant compte de l'accessibilité géographique, de l'acceptabilité du protocole et de la densité de la population.

### 2- Population étudiée

Deux cent enfants, âgés environ de 2 à 24 mois, en bonne santé apparente, n'ayant jamais été vaccinés contre l'hépatite B, sont inclus avec le consentement de leurs parents, obtenu après une information complète sur les avantages et inconvénients d'adhérer au protocole.

Le critère d'inclusion sur l'âge est remplacé par la mesure de la taille, par une toise horizontale, afin de pallier à l'imprécision de l'état civil en milieu rural. En se référant aux tables anthropométriques publiées par le National Center for Health Statistics (NCHS) recommandé par l'OMS, les bornes d'inclusion sont ainsi fixées entre 53 cm et 95 cm.

### 3- Critères d'inclusion et randomisation

Les 200 enfants répondant aux critères d'inclusion (taille, absence d'ictère, pas de vaccination antérieure contre le HBV, consentement des parents) sont répartis par tirage au sort en deux groupes égaux de 100 sujets :

- groupe A, recevant 2,5 mcg / 0,5 ml (présentation multidose)
- groupe B, recevant 5mcg / 1ml (présentation unidose)

L'attribution du groupe de vaccination est effectué selon l'ordre de présentation des enfants, à partir d'une répartition aléatoire en deux groupes établie sur micro ordinateur (programme EPISTAT).

### 4- Schéma de vaccination et vaccins utilisés

Les enfants inclus dans l'essai reçoivent 3 doses de vaccin à un mois d'intervalle pour la primo-vaccination (J0, J30, J60) et une injection de rappel, un an après la première dose (J365), soit fin décembre 1989.

La composition des vaccins utilisés selon les deux groupes est la suivante :

- Groupe A . Hévac B Pasteur en flacon multidose de 10 ml de vaccin. Pour une dose vaccinnante de 0,5ml :

* Suspension d'HBs Ag purifiée et inactivée du HBV.....	min. 2,5 mcg
* Hydroxide d'aluminium .....	max. 0,625 mg
* Formaldehyde .....	max. 0,1 mg
* Mercuriothiolate† .....	max. 0,05 mg
* Excipient (solution saline tamponnée).....	qsp 0,5 ml

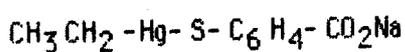
- Groupe B. Hévac B Pasteur unidose, en seringue prête à l'emploi de 1 ml :

* Suspension d'HBs Ag purifiée et inactivée du HBV.....	min. 5 mcg
* Hydroxide d'aluminium .....	max. 1,250 mg
* Formaldehyde .....	max. 0,2 mg
* Excipient (solution saline tamponnée).....	qsp 1 ml

- La composition de l'excipient par litre est la suivante :

* Tris (hydroxyméthyl) aminométhane .....	2,10 moles
* Chlorure de Sodium .....	0,15 moles
* Polysorbate 80 .....	0,250 g
* Eau pour préparation injectable .....	1000 ml

† Le Mercuriothiolate sodique (Ethy)-mercure-thiosalicylate de sodium) dont la formule chimique est la suivante :



se présente sous la forme d'une poudre jaune crème très soluble dans l'eau. Il figure dans de nombreuses formules de spécialités où il est utilisé soit comme conservateur, dans des vaccins comme les vaccins contre la coqueluche, le tétanos, la diphtérie, etc [104], soit comme antiseptique, sous la forme de pommade dermique ou ophtalmique [36].

Les vaccins sont stockés en température positive, entre +2°C. et +8°C. Leur congélation, proscrite par le fabricant en raison de l'adjuvant, est soigneusement évitée. Tout flacon multidose ouvert est utilisé ou jeté dans un délai maximum de 6 heures. Ils sont administrés par voie sous-cutanée, avec du matériel d'injection à usage unique.

### 5- Schéma de prélèvement

Un prélèvement de sang veineux de 5 ml est pratiqué avant vaccination (J 0) et un mois après la 3<sup>ème</sup> injection (J 90). Seules les veines périphériques du pli du coude ou du dos de la main sont ponctionnées, à l'exclusion des veines profondes.

Les échantillons sanguins sont traités sur le terrain par centrifugation, séparation du sérum, congélation par immersion en azote liquide et stockage à - 20°C., jusqu'à leur expédition au laboratoire de titrage des marqueurs sériques du HBY de Pasteur vaccins.

Deux autres prélèvements sont prévus juste avant le rappel vaccinal (J 365 ) et un mois après.

La chronologie des vaccinations et des prélèvements est résumée ci-dessous :

Chronologie	J0	J30	J60	J90	J365	J395
Vaccins	Y1	Y2	Y3	-	Y4	-
Prélèvements	P1	-	-	P2	P3	P4

NB: la présente étude traite des résultats disponibles jusqu'à J90.

### 6- Surveillance clinique et traitements associés

Après chaque injection de vaccin, les enfants sont gardés en observation pendant une demi-heure pour dépister et traiter une éventuelle réaction immédiate.

48 heures après, un examen clinique standardisé est pratiqué par un médecin ignorant le protocole de vaccination, pour dépister :

- les réactions locales :

- \* douleur
- \* inflammation
- \* induration
- \* abcédation

- les réactions générales :

- \* fièvre (mesure de la température axillaire)
  - \* diarrhées
  - \* vomissements
- tout autre signe laissé à l'appréciation de l'examinateur par une rubrique ouverte.

Selon la morbidité dépitée, les traitements suivants sont prescrits :

- induration douloureuse : aspirine
- fièvre : aspirine + chloroquine
- diarrhées : sels de réhydratation par voie orale
- foyer infectieux : antibiotique

## 7- Critères d'évaluation

7-1 L'âge est estimé par la taille, en constituant deux groupes, 2-11 mois d'une part, 12 mois et plus d'autre part, en prenant comme valeur discriminante la valeur de la taille médiane pour l'âge de 11 mois (normes NCHS : 74,9 cm et 73,1 cm respectivement pour les garçons et pour les filles).

7-2 Le statut nutritionnel est établi par le rapport exprimé en pourcentage du poids observé sur le poids médian des normes NCHS, pour la taille et le sexe de l'enfant. Les enfants sont considérés comme malnutris lorsque leur statut nutritionnel est inférieur à 80% de la norme médiane.

7-3 L'efficacité : L'antigène HBs, les anticorps anti-HBc et anti-HBs sont titrés par le laboratoire de Pasteur Vaccin sur les prélèvements prévacinaux (J0) et les anticorps anti-HBs sur les prélèvements postvacinaux (J90).

Tous les titrages sont effectués en aveugle par la méthode RIA et les résultats, exprimés en milliunités internationales par millilitre (mUI/ml).

La séroconversion est calculée après exclusion des enfants présentant un ou plusieurs marqueurs sériques prévacinaux, avec un seuil de positivité fixé à 8 mUI/ml d'anticorps anti-HBs. L'intensité de la réponse immunitaire est évaluée par la moyenne géométrique des titres d'anticorps anti-HBs.

## 8- Traitement des données

Les données sont saisies sur micro-ordinateur (logiciel EPIDEMIO), en vue de l'analyse statistique.

Celle-ci consiste en une description des variables étudiées et une comparaison des groupes avec un seuil de signification fixé à 0,05. Les tests utilisés sont le chi<sup>2</sup>, le test exact de Fisher, le test F et le test t de student, selon la nature des variables à comparer.

## RESULTATS

### 1- Caractéristiques des patients

#### 1-1 Selon le lieu de recrutement

200 enfants répondant aux critères d'inclusion sont recrutés dans 6 villages de la zone d'étude. Leur répartition selon les deux groupes vaccinaux est donnée dans le tableau n° 9.

TABEAU N° 9 : Répartition selon les groupes et les villages

Villages	Unidose	Multidose	Total
Sonkon	16	19	35
Mouroukorobougou	18	10	28
Farako	7	3	10
Dnugourakoro	13	16	29
Kokonkourou	9	6	15
Koulikoroni	37	46	83
TOTAL	100	100	200

#### 1-2 Selon l'âge estimé et le sexe

L'âge des enfants, estimé à partir de la taille, est également réparti entre les 2 groupes. 106 enfants sont de sexe masculin (53%) contre 94 de sexe féminin (47%). Leur répartition selon les groupes de vaccination ne diffère pas significativement ( $\text{Chi}^2=2,8$   $p=0,10$ ).

TABEAU N° 10 : Répartition selon les groupes, l'âge et le sexe

Age classé	Unidose		Multidose		Total
	M	F	M	F	
2-11 mois	29	21	28	22	100
12-24 mois	18	32	31	19	100
TOTAL	47	53	59	41	200

#### 1-3 Selon le poids, la taille et le statut nutritionnel

Le tableau n° 11 résume la tendance centrale et la dispersion des variables poids et taille selon les deux groupes de vaccination. L'analyse statistique ne montre aucune différence significative ( $p = 0,56$  et  $p = 0,74$ , respectivement pour le poids et la taille). Etabli à partir de ces 2 mesures, le statut nutritionnel ne diffère pas significativement entre les deux groupes de vaccination.

TABLEAU N° 11 : Répartition selon le poids, la taille et le statut nutritionnel.

Critères de comparaison	Unidose (N=100)	Multidose (N=100)	Total (N=200)	Test statistique
Taille (cm) †	75,3 (8,9)	75,7 (9,2)	75,5 (9,0)	F=0,1 NS
Poids (Kg) †	8,9 (2,3)	9,1 (2,4)	9,0 (2,4)	F=0,3 NS
Statut nutritionnel †	90,8% (10,6)	91,2% (10,5)	91,0% (10,5)	F=0,1 NS

† valeur moyenne ( $\pm$  déviation standard) - NS= non significatif ( $p > 0,05$ )

#### 1-4 Selon la température corporelle avant la vaccination

Les températures moyennes, avec leur écart-type, mesurées avant chaque séance de vaccination, sont rapportées dans le tableau n° 12. La comparaison des deux groupes ne révèle aucune différence statistiquement significative.

TABLEAU 12 : Température axillaire en ° C avant chaque session vaccinale selon les groupes

Chronologie	Unidose		Multidose		Total		Test statistique
	N	M	N	M	N	M	
1ère injection (J0)	100	36,5	100	36,5	200	36,5	F=0,5 NS
2ème injection (J30)	91	36,9	94	36,8	185	36,9	F=0,7 NS
3ème injection (J60)	85	36,9	89	36,8	174	36,8	F=0,4 NS

N= effectif - M=moyenne en ° C - NS=non significatif ( $p > 0,05$ )

#### 1-5 Prévalence des marqueurs sériques de l'hépatite B avant vaccination

Avant 1 an, 14 enfants sont positifs pour l'un ou l'autre des marqueurs sériques (15,4%), dont 8 pour l'anticorps anti-HBc, probablement d'origine maternelle ; 5 d'entre eux sont cependant porteurs de l'antigène HBs, témoignant d'une infection récente (5,5%).

Entre 12 et 24 mois, 22 enfants sont séropositifs (23,4%) dont 9 pour l'HBs Ag, isolé ou associé à d'autres marqueurs.

La séronégativité des marqueurs du virus de l'hépatite B avant vaccination est également répartie selon les 2 groupes uni et multidose (cf. paragraphe 3 et tableau 16).

TABLEAU N° 13 : Prévalence des marqueurs sériques de l'HBV selon l'âge

Marqueurs sériques	2-11 mois	12-24 mois	TOTAL
Triples négatifs	77	72	149
HBs Ag	1	3	4
anti-HBs	1	6	7
anti-HBc	8	3	11
HBs Ag + anti-HBc	4	4	8
HBs Ag + anti-HBs	-	2	2
anti-HBs + anti-HBc	-	4	4
TOTAL	91	94	185

## 2- Assiduité

Elle est analysée à la fois pour le protocole d'efficacité (vaccination et de prélèvement) dans le tableau n° 14 et pour le protocole de tolérance (surveillance clinique) dans le tableau n° 15.

L'assiduité aux trois séances de vaccination est de 86,5% ( 84% et 89% respectivement pour les 2 groupes unidose et multidose) et celle aux 2 prélèvements sanguins, réduite par les échecs à la ponction veineuse, de 84% (83% et 85% respectivement pour les groupes uni et multidose). En combinant ces deux facteurs, on obtient l'assiduité globale des enfants ayant reçu les 3 doses de vaccin, chez lesquels la sérologie HBV pré et post-vaccinale est déterminée : elle est de 76% pour l'ensemble des 200 enfants inclus (73% et 78% respectivement pour les groupes uni et multidose). Notons que ces pourcentages seront réduits par les enfants séropositifs avant vaccination, dans l'analyse de l'efficacité.

TABLEAU N° 14 : Assiduité aux séances de vaccination et de prélèvement.

Assiduité	Unidose (N=100)	Multidose (N=100)	Total (N=200)	CHI 2
aux 3 vaccinations	84	89	173 (86%)	1,06 NS
aux 2 prélèvements	83	85	168 (84%)	0,84 NS
GLOBALE †	73	78	151 (76%)	0,67 NS

† assiduité totale aux 3 sessions vaccinales et aux 2 prélèvements - NS =  $p > 0,05$

L'assiduité au protocole de surveillance clinique, consécutive aux 3 séances de vaccination, est toujours supérieure à 80% des sujets vaccinés, hormis dans le groupe unidose, après la troisième injection (76%). L'analyse statistique de l'assiduité en fonction des 2 groupes ne montre aucune différence statistiquement significative.

TABLEAU N° 15 : Assiduité au suivi clinique.

Assiduité	Unidose		Multidose		Total		CHI 2
	†	**	†	**	†	**	
1ère injection (J0)	100	94%	100	95%	200	95%	0,67 NS
2ème injection (J30)	91	87%	94	91%	185	89%	0,89 NS
3ème injection (J60)	85	76%	89	86%	174	81%	2,90 NS

† effectif vacciné - \*\* pourcentage d'enfants suivis - NS =  $p > 0,05$

Ces résultats incitent à penser que les enfants perdus de vue ne sont pas sélectionnés par un changement de comportement lié au type de vaccin administré, mais se sont constitués de façon aléatoire, par l'effet de mouvements migratoires ou de l'indisponibilité temporaire, au moment de la vaccination et/ou du prélèvement.

### 3- Comparabilité des groupes sérologiques

Si les groupes unidose et multidose paraissent comparables au moment de l'inclusion (cf. paragraphe I), nous avons vérifié que l'effet de l'assiduité aux vaccinations et aux prélèvements n'a pas compromis cette comparabilité pour la taille, le poids, le statut nutritionnel et immunitaire (pourcentage de sujets séronégatifs avant vaccination) :

TABLEAU N° 16 : Comparabilité des groupes, après exclusion des perdus de vue.

Critères de comparaison	Unidose (N=73)	Multidose (N=78)	Total (N=151)	Test statistique
Taille (cm) †	75,8 (9,3)	76,3 (9,4)	76,1 (9,4)	F=0,1 NS
Poids (Kg) †	9,1 (2,4)	9,3 (2,5)	9,2 (2,4)	F=0,3 NS
Statut nutritionnel †	91,5% (10,6)	91,6% (10,5)	91,6% (10,6)	F=0,1 NS
Statut immunitaire **	55 (75%)	66 (85%)	121 (80%)	Chi2=2,04 NS

† valeur moyenne ( $\pm$  déviation standard) - NS =  $p > 0,05$

\*\* enfants séronégatifs avant vaccination.

#### 4- Efficacité

L'analyse de l'efficacité porte sur un total de 121 enfants séronégatifs avant vaccination (55 dans le groupe unidose et 66 dans le groupe multidose), assidus aux 3 séances de vaccination et aux 2 prélèvements.

##### 4-1 Réponse immunitaire selon les groupes de vaccination

En terme de séroconversion, on obtient un taux de 77% dans le groupe multidose, contre 91% dans le groupe unidose (différence statistiquement non significative,  $p=0,07$ ).

Par contre, la moyenne géométrique des anticorps anti-HBs après vaccination est environ 7 fois plus élevée avec le vaccin classique (382 mUI/ml) qu'avec la demi-dose pédiatrique (52 mUI/ml) pour l'ensemble des enfants vaccinés (tableau n° 17). En considérant uniquement les sujets ayant fait une séroconversion, la réponse immunitaire reste encore quatre fois plus élevée dans le groupe unidose (692 mUI/ml contre 165 mUI/ml).

TABLEAU 17 : Séroconversion et titres d'anticorps anti-HBs selon les groupes

Critères d'efficacité	Unidose (N=55)	Multidose (N=66)	Tests statistiques
Séroconversion (%)	91% (50/55)	77% (51/66)	Chi2=3,1 p=0,07
GMT (mUI /ml) †	382 (N=55)	52 (N=66)	F=19,3 p<0,001
GMT (mUI /ml) **	692 (N=50)	165 (N=51)	F=21,3 p<0,001

† moyenne géométrique des anticorps anti-HBs chez tous les sujets

\*\* moyenne géométrique des anticorps anti-HBs uniquement en cas de séroconversion.

##### 4-2 Réponses immunitaires selon l'âge, le sexe et le statut nutritionnel

Les taux de séroconversion et les moyennes géométriques des titres d'anticorps anti-HBs sont comparés, dans chaque groupe, en fonction de l'âge, du sexe et du statut nutritionnel.

Dans le groupe unidose (tableau n°18), la réponse quantitative en titre d'anticorps (GMT) est significativement plus élevée chez les enfants âgés de 2 à 11 mois que chez les enfants plus âgés. Cependant, les taux de séroconversion ne sont pas statistiquement différents entre les 2 groupes d'âge. Selon le sexe et le statut nutritionnel, on ne note aucune différence statistiquement significative, aussi bien entre les taux de séroconversion qu'entre les GMT.

Dans le groupe multidose (tableau n°19), on ne note aucune différence statistiquement significative, aussi bien entre les taux de séroconversion qu'entre les GMT, pour les trois facteurs étudiés.

TABLEAU N° 18 : Réponses immunitaires selon l'âge, le sexe, la malnutrition (groupe unidose)

GRUPE UNIDOSE (N=55)	Séroconversion %	GMT † (mUI/ml)
<i>Selon l'âge</i>		
* 2-11 mois	93% (25/27)	1332 ‡
* 12-24 mois	89% (25/28)	359
<i>Selon le sexe</i>		
* masculin	89% (24/27)	619
* féminin	93% (26/28)	766
<i>selon l'état nutritionnel</i>		
* malnutri ††	83% (5/6)	533
* normal	92% (45/49)	712

† moyenne géométrique des anticorps anti-HBs uniquement en cas de séroconversion.

†† poids < 80% du poids médian pour la taille

‡ différence hautement significative (F=9,2 et p=0,003)

TABLEAU N° 19 : Réponses immunitaires selon l'âge, le sexe, la malnutrition (groupe multidoses)

GRUPE MULTIDOSE (N=66)	Séroconversion %	GMT † (mUI/ml)
<i>Selon l'âge</i>		
* 2-11 mois	82% (28/34)	180
* 12-24 mois	72% (23/32)	150
<i>Selon le sexe</i>		
* masculin	73% (29/40)	132
* féminin	85% (22/26)	222
<i>selon l'état nutritionnel</i>		
* malnutri ††	100% (10/10)	224
* normal	73% (41/56)	152

† moyenne géométrique des anticorps anti-HBs uniquement en cas de séroconversion.

†† poids < 80% du poids médian pour la taille

## 5- Tolérance

### 5-1 Réactions locales

Les réactions locales observées se limitent à des indurations au site d'injection, très peu douloureuses, avec des signes inflammatoires à minima. Aucune abcédation n'a été dépistée.

La fréquence des indurations est globalement 5 fois plus élevée avec le vaccin unidose (6,7%) qu'avec le vaccin multidoses (1,2%).

Selon la séquence chronologique des vaccinations, la différence de fréquence entre les 2 groupes disparaît dès la 2ème injection.

Ces résultats suggèrent que le vaccin unidose entraîne plus d'indurations, en raison de la double quantité d'hydroxyde d'alumine, avec une atténuation de cet effet lors des injections ultérieures.

TABLEAU N° 20 : Réactions locales selon les groupes

Indurations après :	Unidose		Multidose		Test de Fisher
	†	††	†	††	
1ère injection (J2)	94	10 (10,6%)	95	1 (1,0%)	p=0,04
2ème injection (J32)	79	3 (3,8%)	86	1 (1,2%)	p=0,27 NS
3ème injection (J62)	65	3 (4,6%)	77	1 (1,3%)	p=0,25 NS
TOTAL	238	16 (6,7%)	258	3 (1,2%)	p=0,01

† Nombre d'enfants cliniquement suivis - †† Nombre d'induration (%) - NS = p > 0,05

### 5-2 Réactions fébriles

Le tableau n° 20 compare les températures moyennes entre les deux groupes, 48 heures après chaque injection et ne montre aucune différence statistiquement significative.

TABLEAU N° 21 : Températures axillaires moyennes après vaccination selon les groupes

Température après :	Unidose		Multidose		Test statistique
	†	††	†	††	
1ère injection (J2)	94	36,9° (0,4)	95	36,9° (0,4)	F= 0,4 NS
2ème injection (J32)	79	36,9° (0,4)	86	36,8° (0,5)	F= 0,6 NS
3ème injection (J62)	65	37,0° (0,6)	77	36,9° (0,4)	F= 0,5 NS

† Nombre d'enfants cliniquement suivis - †† moyenne (± déviation standard) - NS = p > 0,05

Cinq cas de fièvre, égale ou supérieure à 38 °C sont observés 48 heures après la première injection (1 cas), la deuxième (1 cas) ou la troisième (3 cas). 3 cas apparaissent dans le groupe unidose, soit une incidence de 12,6 pour 1000 injections et 2 cas dans le groupe multidose, soit une incidence de 7,7 cas pour 1000 injections (différence non significative).

Ces 5 réactions fébriles isolées, d'intensité variable (38°, 38°5, 38°7, 39°5, 39°9), ont rapidement régressé sous antipyrétique et chloroquine.

### 5-3 Troubles digestifs

49 épisodes diarrhéiques (9,8%) et 15 cas de vomissements (3%), secondaires aux 496 injections pratiquées sont observés.

La fréquence de ces réactions ne diffère pas selon les 2 groupes de vaccination et ne semble pas influencée par le calendrier vaccinal.

TABLEAU N° 22 : Diarrhées après vaccination selon les groupes

Diarrhées après :	Unidose		Multidose		Test de Fisher
	†	††	†	††	
1ère injection (J2)	94	12 (12,8%)	95	9 (9,5%)	p=0,31 NS
2ème injection (J32)	79	6 (7,6%)	86	8 (9,3%)	p=0,45 NS
3ème injection (J62)	65	5 (7,7%)	77	9 (11,7%)	p=0,36 NS
TOTAL	238	23 (9,6%)	258	26 (10%)	p=0,49 NS

† Nombre d'enfants cliniquement suivis - †† Cas de diarrhée (%) - NS =  $p > 0,05$

TABLEAU N° 23 : Vomissements après vaccination selon les groupes

Vomissements après :	Unidose		Multidose		Test de Fisher
	†	††	†	††	
1ère injection (J2)	94	3 (3,2%)	95	2 (2,1%)	p=0,49 NS
2ème injection (J32)	79	1 (1,3%)	86	4 (4,7%)	p=0,21 NS
3ème injection (J62)	65	2 (3,1%)	77	3 (3,9%)	p=0,58 NS
TOTAL	238	6 (2,5%)	258	9 (3,5%)	p=0,35 NS

† Nombre d'enfants cliniquement suivis - †† Cas de vomissements (%) - NS =  $p > 0,05$

## DISCUSSION ET CONCLUSION

Il a été démontré que le protocole d'immunisation actuel, de 5 mcg d'HBs Ag par dose de vaccin Hevac B est sans danger et efficace, pour l'adulte comme pour l'enfant [65-97]. En revanche, il existe encore peu d'expériences dans les pays en voie de développement, relatives à la vaccination de nourrissons avec des doses réduites, qui puissent être comparées avec nos résultats.

### Efficacité :

Cette étude montre que si les taux de séroconversion se sont pas statistiquement différents (77% contre 91% avec respectivement 2,5 et 5 mcg d'antigène vaccinal), l'intensité de la réponse immunitaire, mesurée par la moyenne géométrique des titres d'anticorps anti-HBs (GMT), est 7 fois moins élevée avec la demi-dose pédiatrique (52 mUI/ml contre 382 mUI/ml).

En Corée du Sud, une étude réalisée chez 200 nouveau-nés avec les mêmes doses de 2,5 mcg et 5 mcg obtient des résultats plus modestes, un mois après la troisième injection (taux de séroconversion de 67,7% et de 51,2% , GMT de 12,2 et 5,5 mUI/ml, respectivement avec 2,5 et 5 mcg). Le rappel, pratiqué un an après la première injection, a pour effet d'augmenter la réponse immunitaire des 2 groupes : taux de séroconversion de 83,3% et de 95% et GMT de 546,4 et 782,6 mUI/ml [60]. Au Mali, l'association vaccinale BGC-Hevac B, à raison de 2 injections intra-dermiques de 1mcg à 6 mois d'intervalle, a été testée sans succès chez des nourrissons, donnant un taux de séroconversion de 18,9% [82]. Les auteurs incriminent plus l'intervalle de temps que la faible dose utilisée. En effet, Greenfield, au Kenya, obtient chez des nouveau-nés, avec la même dose et la même voie d'administration à 3 mois d'intervalle, 80% de séroconversion contre 76,9% avec 5 mcg intra-musculaires, également à 3 mois d'intervalle [45]. Une étude réalisée à Taïwan chez 301 enfants d'âge pré-scolaire, rapporte un taux de séroconversion de 92%, obtenu après 3 doses de 1mcg [110].

La durée de la protection reste une question encore débattue, principalement en raison du recul insuffisant que l'on a chez les nourrissons vaccinés. Une étude de la persistance à long terme des anti-HBs après vaccination contre l'hépatite B (schéma classique Hévac B) a été menée chez des adultes, dans différents hopitaux français [43] : 5 ans après le rappel, soit 6 ans après la première injection, 96% des sujets vaccinés avaient encore des anti-HBs, dont 89% avec des titres supérieurs à 100 mUI/ml et seulement 4% étaient devenus négatifs. Classiquement, après la dernière injection, les titres d'anti-HBs diminuent progressivement jusqu'à devenir nuls au bout de cinq à six ans. Il existe cependant une variation individuelle très importante dans la diminution des anticorps et, de plus, leur baisse jusqu'à un point où ils ne sont plus décelables ne signifierait pas obligatoirement la perte de la protection, car la longue

incubation de l'HBV laisse à l'hôte plus de temps pour élaborer une réponse immunitaire anamnesticque [15].

Selon l'âge, bien que les différences observées ne soient pas statistiquement significatives (sauf pour la GMT significativement plus élevée chez les enfants âgés de 2 à 11 mois, recevant 5 mcg), les réponses immunitaires paraissent toujours légèrement supérieures chez les plus jeunes. Cette constatation, déjà bien établie [15], s'ajoute aux arguments épidémiologiques pour vacciner les enfants le plus tôt possible, dès la naissance.

Les enfants de sexe féminin répondent légèrement mieux que les enfants de sexe masculin (différences statistiquement non significatives). Cette notion classique ne justifie pas pour autant un schéma de vaccination différencié selon le sexe [15].

Nous n'avons pas trouvé dans la littérature de travaux consacrés à l'influence de la malnutrition sur la réponse au vaccin contre l'hépatite B. Il est admis que la carence en protéines et énergie peut affecter l'immunité à médiation cellulaire mais préserve celle à médiation humorale. Dans notre étude, les rares enfants malnutris ont présenté une réponse au vaccin Hevac B analogue à celle des enfants en bon état nutritionnel. Cependant, en raison du nombre limité d'observations, ce résultat mériterait être confirmé par des études plus larges.

#### Tolérance :

Les résultats de cette étude confirment l'excellente tolérance de l'hévac B, non altérée par la présence du merthiolate sodique dans le conditionnement multidose : la fréquence plus élevée des indurations au site d'injection après la première administration du vaccin unidose est probablement à mettre sur le compte de la double quantité de l'adjuvant (hydroxyde d'alumine). Hormis cette réaction locale bénigne, les manifestations fébriles sont rares (12,6 et 7,7 cas pour mille injections, respectivement dans les groupes unidose et multidose). Les troubles digestifs (diarrhée : 9,8% et vomissement : 3%) tous discrets, ne sont certainement pas imputables en totalité à la vaccination : en effet, des enquêtes effectuées dans un environnement comparable aboutissent à des résultats de l'ordre de 20% à 25% d'incidence des épisodes diarrhéiques dans les 15 jours écoulés [FABRE P., communication personnelle non publiée].

Aucun des vaccins contre l'hépatite B mis sur le marché n'a donné lieu à des effets secondaires importants. La crainte que d'autres virus présents chez le donneur, par exemple le VIH, puisse survivre aux procédés d'inactivation n'est étayée par aucune donnée et un suivi attentif de plusieurs milliers de sujets ayant reçu le vaccin d'origine plasmatisque n'a montré aucune augmentation du risque de contamination par le virus du SIDA, imputable à la vaccination [15].

Dans le cadre de la surveillance après commercialisation de l'hévac B, un système de pharmacovigilance a été mis en place et a permis de tirer les conclusions suivantes, à partir de plus de 1500 sujets activement suivis et de 470 effets indésirables spontanément notifiés pour

plus de 3 millions de doses administrées [75] :

- les effets indésirables à court terme, imputables au vaccin sont bénins et transitoires ;
- les effets indésirables graves sont trop rares pour qu'une imputabilité vaccinale soit établie ;
- aucune réaction tardive n'a été notifiée ;
- aucun cas d'hépatite B ou non A non B notifié n'a pu être imputé à la vaccination ;
- aucun cas de SIDA n'est également imputable à la vaccination (2 cas rapportés, l'un chez un sujet homosexuel et l'autre, séropositif pour HIV avant vaccination).

- Considérations sur les stratégies d'intégration du vaccin contre l'hépatite B dans le P.E.Y.

L'objectif primordial de tout programme de vaccination contre l'hépatite B est la prévention du portage prolongé de l'HYB, responsable de l'hépatite chronique, de la cirrhose et du carcinome hépatocellulaire. La prévention de l'hépatite clinique aigue n'a qu'un intérêt secondaire, au plan de la santé publique. La priorité doit donc être accordée à la vaccination des nourrissons et les jeunes enfants qui courent le plus grand risque de devenir porteurs chroniques.

L'estimation du degré de risque devrait reposer sur les critères suivants :

- la fréquence du portage de l'HBV dans la population,
  - la proportion de porteurs imputable à la transmission périnatale, qui peut elle-même être estimée par la prévalence chez les femmes en âge de procréer,
  - si possible, le taux de mortalité par hépatopathies imputables à l'infection chronique par HBV.
- Une prévalence élevée, supérieure à 10%, reflète l'existence d'une situation grave et justifie la mise en oeuvre d'un programme destiné aux nouveau-nés.

Une équipe thaïlandaise, dans une étude coût-efficacité, a comparé les 4 stratégies suivantes :

- Test de dépistage pour les mères et vaccination des bébés dont les mères sont porteuses du virus ;
- Test de dépistage pour les mères, vaccination et immunoglobulines spécifiques aux bébés dont les mères sont porteuses du virus ;
- Test de dépistage pour les mères, vaccination et immunoglobulines spécifiques aux bébés dont les mères sont porteuses du virus, vaccination pour les autres enfants ;
- Vaccination systématique de tous les enfants.

Selon les auteurs, la prévention d'un seul cas de portage chronique de l'HBV coûterait plusieurs millions, quelle que soit la stratégie [26]!

Il apparaît ainsi que le principal obstacle actuel à l'intégration de la vaccination contre l'hépatite B dans les P.E.Y. est d'ordre économique. A titre indicatif, au Mali, le budget global du P.E.Y., de 1986 à 1990, s'élève à quatre milliard cent trente cinq millions de francs CFA [29], dont plus de la moitié est assuré par des financements extérieurs (PNUD, UNICEF, OMS, coopérations bilatérales et non gouvernementales).

En conclusion, la nouvelle présentation de l'Hévac B Pasteur multidose devrait permettre de réduire le coût unitaire de la vaccination, par un conditionnement moins cher et par l'administration d'une demi-dose pédiatrique (2,5 µg/0,5 ml).

Ce nouveau schéma de vaccination s'est avéré aussi bien toléré, sinon mieux au plan des indurations locales que le schéma classique (5 µg/1 ml).

La réponse immunitaire est cependant plus modeste en titre d'anticorps anti-HBs et il reste à évaluer l'effet du rappel, prévu un an après la première injection, pour valider ce protocole de vaccination.

## BIBLIOGRAPHIE

- 1- ADAMOWICZ P. et al. Elimination of serum proteins and potential virus contaminant during Hepatitis B Vaccine preparation. *Vaccine* 1984-2-209-214.
- 2- ADAMOWICZ P. et al. Large scale production of an hepatitis B vaccine.  
In: Hepatitis B vaccine INSERM symposium 18 (Editors Maupas P., GUESRY P.) 1981. ELSEVIER; North Holland Biomedical Press.
- 3- ADAMOWICZ P. et al. Rôle de l'antigène pré-S. Symposium sur l'hépatite B et la vaccination. Bruxelles : 19 mars 1986; p 63.
- 4- ADAMOWICZ P. , CHABANIER G. Elimination of serum proteins and potential virus contaminant during Hepatitis B vaccine preparation. *Vaccine* 1984 (2) :209-214.
- 5- ALTER H.J. , PURCELL R.H. , FEINSTONE S.M. , TEGMETER G.E. Non A non B hepatitis : its relationship to cytomegalovirus, to chronic hepatitis and to direct and indirect test methods. In : SZMUNESS W., ALTER H.J. , MAYNARD J.E. Ed. viral hepatitis ; 1981 International symposium Philadelphia : Franklin Institute. Press 1982; 279-294.
- 6- ASSICE M. Contribution à l'étude de la division familiale du virus de l'hépatite B chez les Noirs africains du Sénégal. Thèse de médecine 1980 ; DAKAR n° 95.
- 7- BANCROFT W.H. , SNIBHAN R. et coll. Transmission of hepatitis B virus to gibbons by exposure to human saliva containing hepatitis B surface antigen. *The Journal of infectious diseases* 1977;135 : 79-85.
- 8- BARBOTIN M. , OURDAT J.L. , MARTY M. L'antigène australie dans une population hospitalière africaine : fréquence et corrélation clinique. *Nouvelle presse méd.* 1972- p 2392-2394.
- 9- BARIN F., GOUDEAU A. , DENIS F. et al. Immune response in neonates to hepatitis B vaccine. *Lancet* , 1982; (1) : 251-253
- 10- BARROIS Y. Infection par le virus de l'hépatite B (fréquence et conséquences). *Gastro enterol. clin. Biol.* 1977-1- 1053- 1062.
- 11- BAYER M.E. , BLUMBERG B.S. , WERNER B. Particules associated with australia antigen in the Sera of patients with Lenkenia-Down's syndrome and hepatitis. *Nature*, 1968- 218- 1057-1059.
- 12- BAYLET R. , DIEBOLT G. , LINHAR J. Prevalence de l'antigène australie dans une population rurale d'enfants au Sénégal. *Rev. Epidem.Méd.soc. et Santé publique*; 1975- t 23, n°4-5 : p 287-295.
- 13- BEASLEY R.P., HWANG L.Y., LEE G.C.Y. et al. Prevention of perinatally-transmitted hepatitis B virus infections with hepatitis B immune globulin and hepatitis B vaccine. *Lancet* , 1983; (2) : 1099-1102
- 14- BEASLEY R.P. Strategies globales pour la prévention de l'Hépatite B. Symposium asiatique sur les stratégies pour l'immunisation contre l'Hépatite B. Hong-Kong 12-13 juillet 1986; p 207.

BIBLIO 2

- 15- BEASLEY R.P. Stratégie de vaccination contre l'hépatite B.  
OMS/EPI, Genève 1988 : 5. doc. ronéo, 24 pages.
- 16- BLUMBERG B.S. Australia antigen and the biology of hepatitis B.  
Sciences 1977; (197) : 17-25.
- 17- BLUMBERG B.S. , FRIEDLANDER J.S. , WOODSIDE et coll.  
Hepatitis and australia antigen = autosomal recessive inheritance of susceptibility of infection in human. Prot. Nat. Acad. Sci. U.S.S. 1969- 62- 1108.
- 18- BLUMBERG B.S. , HESSER J.E.  
Viral hepatitis : modes of transmission and the role of the carrier. Transmissible disease and blood transfusion. GREENWALT JT. , JAMESON GA. 1975. Grune and stratton ed.
- 19- BLUMBERG B.S. , MELARTINI L. , GUINTO R.A. et WERNER B. Families studies of human serum isoantigen system (australia antigen)  
American Jo. of human genetic 1966- 18 (6) : 566-594.
- 20- BLUMBERG B.S. , SUTNICK A.J. , CONDON W.T. , MELARTINI L.  
The distribution of australia antigen. Arch. Inter. Méd. 1972; (130) : 227-231.
- 21- BRECHOT C. , SCOTTO J. , CHARNAY P. , HADEHOUEL M. , DEGOS F. , TREPOC. , THIOLLAIS.  
Detection of hepatitis B virus DNA in liver and serum : a direct appraisal of the chronic carrier state. The Lancet; 1981 : 766- 767.
- 22- BUDYOWSKA A. , BRIANTAIS M.J. , DUBREUIL P. et al. Detection of antibodies directed against the pre-S gene product of hepatitis B virus : relationship between anti pre-S reponse and recovery. Ann. Inst. Pasteur / Immunol. 1985; (136 D) : 57-65.
- 23- BUFFET C. Hépatite chronique et cirrhose post nécrotique d'origine virale certaine ou supposée. Y.M. 16-17; 1980- 1352.
- 24- BUFFET C. , LAROUZE B.  
Transmission maternelle du virus de l'Hépatite B ( fréquence et conséquences). Gastroentérol. Clin. Biol. 1977; (1) : 1035-1062.
- 25- CHOO Q.L. , KUO G. , WEINER A.J. , OYERBY L.R. , BRADLEY D.W. , HOUGHTON M.  
Isolation of a c.DNA clone derived from a blood born non A non B viral hepatitis genome. Science 1989; (244) : 359- 362.
- 26- CHUNSITTIWAT S.  
Cost effectiveness analysis of hepatitis B control programme in Thailand.  
In Sittaprecha Y ed. " viral B hepatitis" Bangkok. Medc. Press; 1986 : p 159-169.
- 27- COLLIGNON H.  
Hépatite B : les recherches s'orientent vers un vaccin moins coûteux.  
Med. digest. 1985; ( Y. XI n°6) : p 21-23.
- 28- COMBRIDGE B.S. et SHAW C.  
Immono electrophoresis using discontinuous buffer system to detect australia antigen in pooled human plasma. Lancet; 1971 : 1184-1185.
- 29- COOPERATION MALI- UNICEF  
Plan d'opération UNICEF, 1988- 1992, PEY Y021

- 30- COULIBALY K.  
Contribution à l'étude de la transmission verticale de l'Hépatite B : prévalence de l'antigène HBs chez 206 couples mère-enfant. Thèse pharmacie Bamako; 1983- 50 p.
- 31- COUROUCE A.M.  
Sous-types de l'antigène HBs : répartition géographique et aspects épidémiologiques.  
La revue de Médecine; 9 février 1976; (t XVIII) : p 299-306.
- 32- COUROUCE- PAUTY A.M , SOULIER J.P. Further data on HBs antigen subtypes geographical distribution. Vox.sang. 1974; (27) : 533-549.
- 33- COUSSIRA D. L'Hépatite B : Epidémiologie et conséquences pathologiques au Mali.  
Thèse méd. Paris 1982 n° 229.
- 34- DIEBOLT G. , LINHAR J. Niveau de la prévalence de l'antigène HBs en Afrique noire francophone. Med. Afr. noire; 1976 : 389-396.
- 35- DONSIMONI A. Système immunologique des hépatites virales  
Nouv. press Méd. 1979- 3533, 8- (43).
- 36- DURVAUT F. Mercurothiolate sodique . L'officine, Vigot édit., p 896.
- 37- DUYAL J. , SOUSSEY C.J. Cours de bactériologie-virologie (Année propédeutique).  
Université Paris-Yvel de Marne ; Faculté de Médecine de Créteil 1977/ 1978 : p 90-94.
- 38- ECOLE NATIONALE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE Evaluation sanitaire des cercles de Kénéba, Bafoulabé et Kita (Mali 1981). Projet Développement sanitaire Banque Mondiale.  
IDA - MALI : p. 108
- 39- EL GOULLI N. Importance de la méthode de fabrication pour l'élaboration d'un vaccin contre l'hépatite B sans risque et d'une qualité antigénique optimale. Symposium asiatique sur les stratégies pour l'immunisation contre l'Hépatite . HONG-KONG 12- 13 juillet 1986.
- 40- FELLEJ J. , FREI P.C.  
L'immunologie de l'Hépatite virale. Med. Hyg. 1980; (1391) : 2997-3001.
- 41- GILES J.P. , MC COLLUM R.W. , BERNDTSON L.W. et coll.  
Viral Hepatitis : relation of antigen australia/ sH antigen to the willow brook M 52 strain.  
New. Engl. J.Med. 1969; (281) : 119-122.
- 42- GORBER M.A. , THUNG S.N. , POPPER M.  
Localization of foetal antigens in relation to HBs Ag in hepatocytes.  
In : Branchi L. and al: Virus and the liver. Basel MTP Press limited; 1979 : 205-208.
- 43- GOUDEAU A. , DUBOIS F. , AZOU P.  
Etude de la persistance à long terme des anti HBs après vaccination contre l'hépatite B.  
Symposium sur l'Hépatite B et la vaccination. Bruxelles, 19 mars 1986 : p 25-31 .
- 44- GOUDEAU A. , DUBOIS F. , BARIN F. , COURSAGET P. Le vaccin contre l'Hépatite virale.  
Rev. Med. France 1982; (16) : 815-823.
- 45- GREENFIELD C. , OSIDIANA O. , TUKEY P.M. et coll. Cheaper immunisation against hepatitis B  
E. Afr. Med. J. 1986; (63) : 3-12

BIBLIO 4

- 46- GROOLE J. Taxonomy of hepatitis.  
In : Branchi L. and al : Virus and the liver; Basel MTP press limited, 1979 : 151-159.
- 47- HEATCOTE J. , CAMERON C.H. , DANE D.S.  
Hepatitis B antigen in saliva and serum. Lancet 1974; (1) : 71-73.
- 48- Hepatitis B and Vaccination symposium, Bruxelles, 19 mars 1986.
- 49- ITOUA NGAPORO A. , GOMBE MBALAWA C. Le portage de l'antigène HBs à Brazzaville.  
Med.Afr. Noire, 1981; (28-2).
- 50- JORAS M. Vaccination contre l'Hépatite B : les premiers succès d'une stratégie mondiale.  
Medecine digest; volume XV n°7, juillet 1987; p 7-12.
- 51- KIM C.Y. , TILLES G.L. Immunologic and electrophoretic heterogeneity of hepatitis associated antigen. J.Infect. Dis., 1971; (123) : 618-628.
- 52- KOZIOL D.E. , HOLLAND P.V. , ALLING D.W. et al. Antibody to hepatitis B core antigen as paradoxical marker for non A non B hepatitis agents in donated blood.  
Ann. Inter. Med. 1986; (104) : 270-276.
- 53- KRUGMAN S. The different agents of viral hepatitis.  
In : Bianchi L. and al ; Virus and the liver. Basel: MTP press limited 1979 : 3-7.
- 54- KUO G. , CHOO Q.L. , ALTER H.J. et al. An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human non A non B hepatitis. Science 1989 ; (244) : 362-364.
- 55- LAROUZE B. , BUFFET C. Epidémiologie des hépatites virales A et B.  
R.P. 1978 - 28 - 25 ( 1er mars 1978) : 1883-1893.
- 56- LAYERDANT C. Hépatite virale. Temp. Med. Af. n° 1980.
- 57- LAYERDANT C. , BAUDON D. Les hépatites virales, épidémiologie.  
Concours Médical, 1980; (12-13) : 7014-7023.
- 58- LE BOUVIER G.L. The heterogeneity of australia antigen.  
J.Infect. Dis. 1971; (123) : 671-675
- 59- LE BOUVIER G.L. , MC COLLUM R.W. , HIERHÖLZER W.J. et coll. Subtypes of australia antigen and hepatitis B virus. J.A.M.A. 1972; (222) : 928-930.
- 60- LEE K.S., LEE H., MOON S.J et al. Vaccination des nouveaux nés contre l'hépatite B : étude clinique d'une nouvelle formule vaccinale et d'un nouveau schéma d'administration.  
Symposium asiatique sur les stratégies pour l'immunisation contre l'hépatite B. Hong-Kong, 12-13 juillet 1986 : 171-180.
- 61- LEYENE C. , BLUMBERG B.S. Additional specificities of australia antigen and the possible identification of hepatitis carriers. Nature 1969; (221) : 195-196.
- 62- MANZILLO G., MAIO G., et al. Infections HBV chez 953 nouveaux nés de mères HBs Ag positives, après immunoprophylaxie passive/active par 2 vaccins HB différents.  
Symposium asiatique sur les stratégies pour l'immunisation contre l'hépatite B. Hong-Kong, 12-13 juillet 1986 : 156-161.

BIBLIO 5

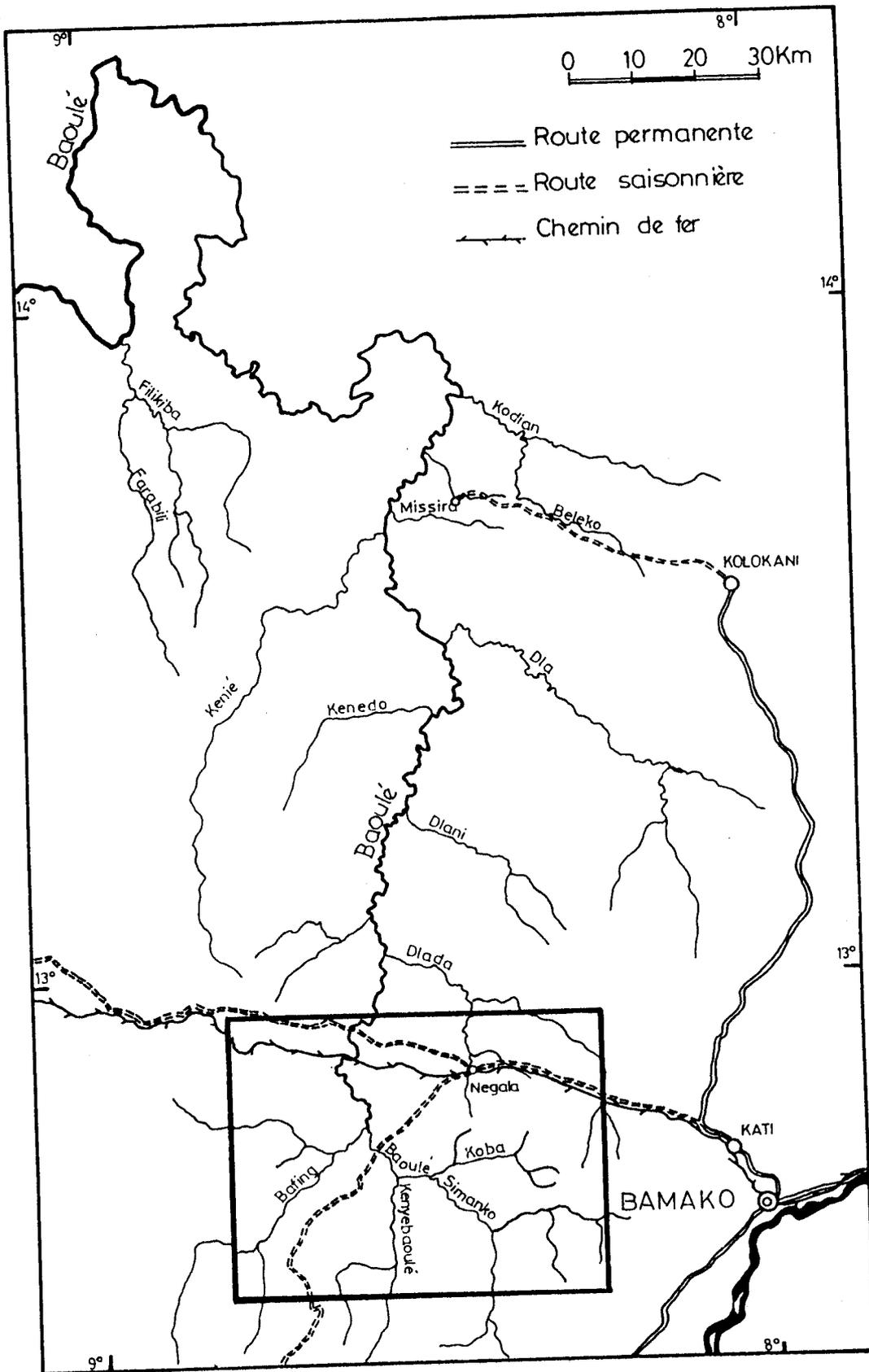
- 63- MAUPAS P. , GOUDEAU A. , COURSAGET P. , BRUCHER J. Nouveaux marqueurs du virus de l'Hépatite B; intérêt du diagnostic et du pronostic. *Nouv. press. med.* 1977; 6 (1) : 32-40.
- 64- MAUPAS P. , DIOF-MAR I. et coll. Vaccination contre l'hépatite B en zone d'endémie (Sénégal) : prévention de l'état des porteurs chroniques de l'antigène HBs chez l'enfant. Colloque Fondation MERIEUX. APMP Edit, 1981 : 171-180.
- 65- MAUPAS P. , CHIRON J.P. et coll. Epidémiologie et conséquences pathologiques du portage chronique du virus de l'Hépatite B au Mali. *Bull. Soc. path. exot.*, 1981; (74) : 722-732.
- 66- MAUPAS P. , CHIRON J.P. BARIN F. et al. Efficacy of hepatitis B vaccine in prevention of early HBs Ag carrier state in children : controlled trial in an endemic area (Senegal). *Lancet*, 1981; (1) : 289-292
- 67- MAZZUR S. , BURGET S. , BLUMBERG B.S. Geographic distribution of australia antigen determinants d, y, and w. *Nature* 1974; (247) : 38-40.
- 68- MAZZUR S. , BLUMBERG B.S. Silent maternal transmission of australia antigen. *Nature* 1974; (247) : 41-43.
- 69- MOSLEY J.M. Epidemiology of HAV infection. In : Vyas G.N. and al; *Virus hepatitis. The FRANKLIN institute press*, 1978 : 65-104.
- 70- MUYEMBE T. , DUMA M. Etude du portage de l'antigène australia au Zaïre : enquête préliminaire. *Med.Afr. noire*, 1975; (22) : 815-819.
- 71- NEURATH R. et al. Hepatitis B virus contain pre-S gene encoded domains. *Nature*, 1985 : 154-156.
- 72- NEURATH R. , KENT S.B. , PARKER K. et al. Antibodies to a synthetic peptide from pre-S 125-145 regions of the hepatitis virus envelope are virus neutralizing. *Vaccine*, 1986; (4) : 35-37.
- 73- NEURATH R. , KENT S.B. , STRICK N. et al. Detection of antiviral antibodies with predetermined specificity using synthetic peptide beta lactamase conjugate : application to antibodies specific for the pre-S region of hepatitis B virus envelope protein. *J.Gen. Virol.* 1986 ; (67) : 453-461.
- 74- NEURATH R. et al. Immuno-chemistry of viruses the basic of sero-diagnosis and vaccines. ELSEVIER Sciences BV, 1985 : p 325.
- 75- NUTINI M.T. Pharmacovigilance Hevac B Pasteur. Symposium sur l'Hépatite B et la vaccination; Bruxelles , 19 mars 1986 : 19-21.
- 76- O.M.S. Prévention des cancers du foie. Série de rapports techniques, Genève, 1983 : 6-91.
- 77- O.M.S. Requirerements for hepatitis B vaccine prepared from plasma. *W.H.O. (B 5)*; 83 - Rev.2- 1391.
- 78- OPOLON P. Les hépatites virales fulminantes. *Vie médicale*, 1980; (16-17) : 1337-1340.
- 79- OURDAT J.L., ROFFI J. Antigène HBs dans les populations rurales du Sénégal. *Med.Trop.*, septembre-octobre 1978; (38-5) : 563-573 .

BIBLIO 6

- 80- PENE P., VINCENTELLI J.M. Affection du foie et de la rate.  
Santé et Médecine en Afrique tropicale . Tome 2 : 374-379
- 81- PIAZZA M. Evaluation de la vaccination contre l'hépatite B des nouveaux nés et des enfants,  
avec un protocole réduit. Symposium sur l'hépatite B et la vaccination. Bruxelles, 19 mars  
1986 : 53-59
- 82- PICHARD E., CISSE H., DUFLO B., FRITZELL B., SANGARE S. Association vaccinale Hévac B -  
BCG au Mali. Méd. Afr. noire, 1987; 34 (11) : 985-987.
- 83- PRINCE A.M. An antigen detected in the blood during the incubation period of serum  
hepatitis. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.; 1968 (60) : 814-821.
- 84- PRINCE A.M. Prevalence of serum hepatitis related antigen(SH) in different geographic  
regions. Amer. Jour.Trop.Med.Hyg. 1970; (19) : 872-879.
- 85- PURCELL R.H. Round tables discussions : non A non B Hepatitis.  
In : Branchi L. and al. ; Virus and the liver. Basel : MTP press limited, 1979 : 119-127.
- 86- RUTTER W.J., ZIEMER M., OU J. et al. Transcription units of hepatitis B virus genes and  
expressions of integrated viral sequences. In : Vyas G.N., Dienstag J.L., Hoofnagle eds. " viral  
hepatitis and liver disease". Grune et Stratton edit., Florida, 1984 : 67-86.
- 87- SANOGO K. Contribution à l'étude de la transmission verticale de l'Hépatite B : prévalence  
chez 1253 jeunes femmes âgées de 16 à 30 mois. Thèse pharmacie, Bko, 1982, n°22; 77 p.
- 88- SENIOR J.R., SUTNICK A.I. et coll. Reduction of post transfusion hepatitis by exclusion of  
australia antigen from blood donors in an urban public hospital.  
Amer. J. Med.Sc., 1974; (264) : 171-177.
- 89- SAYINA J.F., NGUEMATCHA R., JAN C., RAYISE P. Dépistage de l'antigène australia et de  
l'alpha-fœto-protéine dans la région de Yaoundé et sur une population " pigmée" de la région  
de DJOUN. Méd.Afr.noire, 1975; (22) : 381.
- 90- SEPETJEAN M., TREPO C. Microbiologie Berhing. Diagnostic virologique de l'Hépatite B.  
Hoechst-Berhing edit., 1981; (4).
- 91- SIDIBE S. Les marqueurs sérologiques de l'Hépatite B au Mali.  
Thèse médecine, Bamako, 1980; n° 202.
- 92- SINOUSSE F. et al. Laboratory and serological studies argue against possible transmission of  
AIDS by hepatitis B vaccine. Lancet, 1985; (11) : 274.
- 93- SOUBIRAN G., REY J.L., BRETAGNE S., AMZA A. Fréquence des marqueurs de l'Hépatite  
virale au Niger. Presse médicale, 1er décembre 1984; (13- n°43) : 2644.
- 94- SOULIER J.P. and COUROUCE PAUTY A.M. New determinants of hepatitis B antigen (AW or  
HP antigen). Vox Sang Paris, 1983; (25) : 212-235.
- 95- SYMPOSIUM Asiatique sur les stratégies pour l'immunisation contre l'Hépatite B.  
HONG-KONG, 12-13 juillet 1986.
- 96- SZMUNESS W. Recent advances in the study of the epidemiology of hepatitis B.  
Amer. J. Path., 1975; (83) : 629-650.

BIBLIO 7

- 97- SZMUNESS W. , HARLEY E.J. , IKRAN H. , STEVENS C.E. Socio-demographics aspects of the epidemiology of hepatitis B. In : Branchi L; and al.; Virus and the liver. Basel MTP press limited 1979 : 297-320.
- 98- SZMUNESS W. , STEVENS C.E. and al. Hepatitis B vaccine : demonstration of efficacy in a controlled clinical trial in a high risk population in the United States. New Engl. Journ. Med., 1980 : 833-841.
- 99- TANGARA A. Contribution à l'étude du portage de l'antigène HBs des sujets apparemment sains au Mali. Mémoire de pharmacie, Bamako, 1981.
- 100- THIOLLAIS P. , CHARNAY P. , VYAS G.V. Biology of hepatitis B virus. U.S.A Sc. 1981; (213) : 406-411.
- 101- THOMAS H.C. Cellular immunity to the hepatitis B virus. In : Branchi L. and al.; Virus and the liver. Basel M.T.P. press limited, 1979 : 161-167.
- 102- TONG M.J. , THURSKY M.W. , LIN J.H. , WEISSMAN J.Y. Transmission mère-enfant de l'Hépatite B. Med. Afr. noire, 1981; 28(4) : 245-247.
- 103- TRAORE S. Contribution à l'étude du programme élargi de vaccination (PEV) au Mali; évaluation des résultats de la phase mobile du PEV de Barouéli. Thèse méd., Bamako, 1985; (n° 33) : 87 p.
- 104- TREMBLAY-ABOULKER Ch. Dictionnaire thérapeutique. Méd. digest, 1989.
- 105- TREPO C. Hépatite à virus : la sérologie se précise. Med. digest, 1982; 8 (3) : 4-8.
- 106- VILLAJEROS Y.M. , YISONA K.A. , GUHERREZ D. , RODRIGUEZ A. Saliva, urine and feces as transmitters of type B hepatitis. New Engl. J. Med., 1974; (291) : 1375-1377.
- 107- WILLS W. , LAROUZE B. et coll. High field infections rates of hepatitis B virus in the tropical belding, cimex hemipterus. Lancet 1977; (2) : 217-219.
- 108- WILLS W. , SAIMOT G. et coll. Hepatitis B surface antigen in mostiquos collected in Senegal, West Africa. Ann. J. Trop. Med. Hyg. 1976; (25) : 186-190.
- 109- WONG Y.C.W. , IP H.M.H. , REESING H.W. et al. Prevention of the HBs Ag carrier state in newborn infants in mothers who are chronic carriers of HBs Ag and HBe Ag by administration of hepatitis vaccine B and hepatitis B immunoglobulin. Double-blind randomised placebo / controlled study. Lancet, 1984; (2) : 921-926.
- 110- WU T.C. , HWANG B. , LO K.J. Comparaison des différents dosages d'HBs Ag et différents protocoles d'immunisation chez les enfants. Symposium Asiatique sur les stratégies pour l'immunisation contre l'Hépatite B. HONG-KONG, 12-13 juillet 1986 : 187-191.



**Situation géographique de la zone d'étude**

FICHE INDIVIDUELLE D'OBSERVATION - ESSAI CLINIQUE HEVAC B (MALI, 1989-1990).

NOM et prénom.....N° registre.....N° informatique.....

GROUPE : unidose  multidoses  AGE (mois).....SEXE.....POIDS.....TAILLE.....

PERE.....MERE.....

DOMICILE : Village..... Cercle, arrdt.....

**ASSIDUITE**

CHRONOLOGIE	J0	J30	J60	J120	J365	J395
Vaccination (date)	V1	V2	V3		V4	
Prélèvement (date)	P1			P2	P3	P4

Entourer le V si l'enfant est vacciné, le P s'il est prélevé et précisez la date de l'acte

**TOLERANCE**

SIGNES CLINIQUES	1ère injection		2ème injection		3ème injection		injection de rappel	
	J0	J2	J30	J32	J60	J62	J365	J367
Température axillaire (°C) 99 si NP								
Douleur (oui/non)								
Inflammation (oui/non)								
Induration (oui/non)								
Diarrhée (oui/non)								
Vomissement (oui/non)								
Bébé grognon (oui/non)								

Tout autre signe (précisez type et date).....

**IMMUNOGENICITE**

SEROLOGIE	J0	J120	J365	J395
Ag HBs				
Anti-HBs				
Anti-HBc				

Signature de l'investigateur :

Dr. Georges Soula

## **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 couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.**