

SOMMAIRE

DEDICACE.....	II
REMERCIEMENT	IV
Introduction	1
PREMIERE PARTIE	2
2) STRUCTURE ET SPECIFICITE ANTIGENIQUE DU VHB	4
2.1 Classification.....	4
3) Epidémiologie du Virus de l'Hépatite B.....	7
3.1 Répartition géographique de l'hépatite B	7
3-2) Prévalence du VHB	8
3.3. Modes de transmission du VHB	9
4) Clinique.....	10
4-1) Infection aiguë par le VHB	10
4.3 Complications	13
4.3.1 Cirrhose	13
4.3.2 Carcinome hépatocellulaire	14
5) Diagnostique biologique du VHB.....	16
5.1 Diagnostic virologique de l'infection à VHB	16
5.1.1 Recherche des antigènes viraux	16
5.1.2 Recherche des Anticorps spécifiques.....	17
5.1.3 Cinétique et Interprétation des marqueurs sérologiques de l'infection à VHB	17
5-1-3-1 Cinétique des marqueurs sérologiques.....	17
5-1-3-2 Interprétation.....	21
5.2 Diagnostic moléculaire de l'infection à VHB.....	23
5.2.1 Techniques d'amplification du signal	23
5.2.2 Techniques d'amplification de la cible	23
5.2.2.1 <i>Transcription mediated amplification</i>	24
5.2.2.2 Polymerase chain reaction	24

5.2.3 PCR en temps réel.....	24
5.2.4 Expression des résultats de charge virale.....	26
5.3 Suivi de l'infection chronique.....	27
5.3.1 Bilan de base	27
5.3.3 Charge virale et suivi de l'évolution de l'hépatite B chronique.	28
6-Traitemennt de l'hépatite B chronique	30
6.1 Le but du traitement	30
6.3 Les stratégies thérapeutiques	31
6.5 Intérêt de la mesure de la charge virale au cours du traitement anti-VHB	34
7- Prévention de l'hépatite B	36
DEUXIEME PARTIE : TRAVAIL EXPERIMENTAL.....	39
1. Objectifs.....	40
2. Type, cadre et période d'études	40
3. Matériels et méthode	40
4) Résultats	43
1) Caractéristiques de la population d'étude	43
2/ Répartition de la population d'étude selon le statut (externe et hospitalisé)	45
3/Répartition de la population d'études selon les services de provenance	46
4/Répartition des patients selon les marqueurs sérologiques du VHB	47
5) COMMENTAIRE.....	49
Conclusion.....	53
Recommandations	54
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	55

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: Interprétation des résultats de sérologie de l'infection à VHB	21
Tableau II: Directives de l'EASL pour le traitement de l'hépatite B chronique	30
Tableau III: Répartition de la population d'études selon le sexe, la classe d'âge et le statut.....	44
Tableau IV: Répartition de la population d'études selon les marqueurs.....	47
Tableau V: Séroprévalence selon le Sexe	48
Tableau VI: <u>Conversion des copies d'ADN VHB/ml en UI/ml</u>	<u>3048</u>

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Les différentes formes virales du VHB	3
Figure 2: Structure de la particule de Dane.....	4
Figure 3: Organisation du génome du virus de l'hépatite B	6
Figure 4: Cycle de réplication du VHB.....	7
Figure 5: Répartition mondiale de la prévalence du portage de l'Ag HBs	9
Figure 6: Evolution des marqueurs sérologiques au cours de l'histoire naturelle de l'infection chronique à VHB	12
Figure 7: Cinétique des marqueurs virologiques dans le sérum au cours d'une hépatite B aiguë résolutive.	19
Figure 8: Cinétique des marqueurs virologiques dans le sérum au cours d'une hépatite chronique.	20
Figure 9: Cinétique de la réaction de PCR en temps réel.....	26
Figure 10: Incidence cumulée de la résistance aux médicaments antiviraux au cours d'essais-pivots chez des patients atteints d'hépatite B chronique, naïfs aux analogues nucléos(t)idiques	33
Figure 11: Schéma du principe de dosage par chimiluminescence.....	42
Figure 12: Présentation de l'automate Architect i1000 Abbott.....	43
Figure 13: Répartition de la population d'étude selon le statut (externe et hospitalisé).....	45
Figure 14: Répartition de la population d'étude selon les services de provenance	46

Liste des abréviations et acronymes :

ADN: Acide désoxyribonucléique

ADNcc: Covalently closed circular DNA

Ag : Antigène

ALAT : Alanine aminotransférase

ASAT : Aspartate aminotransférase

Anti HBc : Anticorps dirigé contre la protéine core du virus de l'hépatite B

Anti HBe : Anticorps dirigé contre la protéine E du virus de l'hépatite B

Ac anti HBs : Anticorps dirigé contre la protéine de surface du virus de l'hépatite B

ARN : Acid ribonucléique

ARNm : ARN messager

CDC : Centers for disease Control and Prevention

CHC : carcinome hépatocellulaire

dATP :désoxy adénine tri-phosphate

dCTP :désoxy cytosine tri-phosphate

dGTP :désoxy guanine tri-phosphate

DR : Direct repeated sequence

dTTP :désoxy thymine tri-phosphate

dUTP :désoxy uridine tri-phosphate

EASL: European Association for the Study of the Liver

ELISA: Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay

GRe :Glucocorticoïd-responsive element

HBIG : immunoglobulines anti-hépatite B

HBx : Protéine X du virus de l'hépatite B

IFN : Interféron

Ig : Immunoglobuline

IgG : Immunoglobuline de type G

IgM : Immunoglobuline de type M

INSERM : Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale

ISO : Organisation internationale de normalisation

Kb : Kilobase

kDa : Kilodalton

OMS : Organisation mondiale de la santé

ORF: Open Reading Frame

PAL: Phosphatase alkaline

PBC : Promoteur basal du core

PCR : Polymérase Chain ReactionInterféron pégylé

PEV : Programme Elargi de Vaccination

ARNpg : ARN préénomique

PNLH : Programme National de Lutte contre les Hépatites

UNG : uracile N glycosylase

VHB : Virus de l'Hépatite B

VIH : Virus de l'immunodéficience humaine

YMDD : tyrosine-méthionine-aspartate-aspartate

γGT : gamma glutamyl-transpeptidase

CHNU : Centre Hospitalier National Universitaire

CMIA :chemiluminescent microparticle immunoassay

Introduction

L'hépatite B est une infection du foie largement répandue dans le monde et est causée par le Virus de l'Hépatite B (VHB), un petit virus à ADN, appartenant à la famille des Hepadnaviridae.

Cette pathologie constitue un réel problème de santé publique avec 2 milliards de personnes infectées par le virus dans le monde. Parmi eux, plus de 370 millions sont des porteurs chroniques (Institut Pasteur, 2013) et près de 600 000 personnes meurent chaque année des conséquences aiguës ou chroniques de l'hépatite B

En Afrique, 65 millions de personnes sont des porteurs chroniques du VHB et la plus forte endémicité est retrouvée en Afrique Subsaharienne avec une prévalence de l'antigène HBs (Ag HBs) supérieure à 8%. [1].

Au Sénégal, l'infection par le VHB est fortement endémique, avec 11% de porteurs chroniques dans la population générale

La gravité de l'hépatite B chronique est constituée par un risque élevé d'évolution vers une fibrose hépatique suivie d'une cirrhose puis d'un cancer du foie en absence de traitement. En effet le VHB est responsable de 30% des cas de cirrhose et de 53% des cas de carcinome hépatocellulaire (CHC) [3, 2].

D'où l'intérêt d'un bon suivi du patient. La mesure de la charge virale et celle des marqueurs sérologiques présentent un intérêt primordial dans la prise de décision pour la mise en place d'un traitement, à côté du taux de transaminases et de l'examen clinique.

C'est dans ce contexte que nous avons mené cette étude dont l'objectif général est de déterminer les différents profils sérologiques obtenus dans le cadre du dépistage et du suivi patients porteurs du virus de l'hépatite B.



PREMIERE PARTIE

1 Origine du virus de l'hépatite B

La première épidémie enregistrée comme provoquée par le virus de l'hépatite B a été observée par Lurman en 1885. Durant cette période, à Brême (Allemagne), Lurman pratiquait des vaccinations contre la variole, utilisant un vaccin à base de lymphé humaine glycérinée. Après avoir vacciné 1289 ouvriers des chantiers navals, il put observer que 191 ouvriers développèrent une jaunisse dans une période allant de quelques semaines à 8 mois après la vaccination.

En 1965, des hypothèses sur la nature infectieuse de l'antigène « Au » ont été émises, et en 1967 Blumberg et son équipe établirent un lien entre cet antigène et l'hépatite B [4].

Un pas décisif était alors franchi ; c'est alors qu'en 1970, Dane identifia en microscopie électronique, dans le sérum de patients positifs pour l'antigène « Au », des particules de 42 nm de diamètre (particules de Dane) ressemblant à des particules virales [5].

A

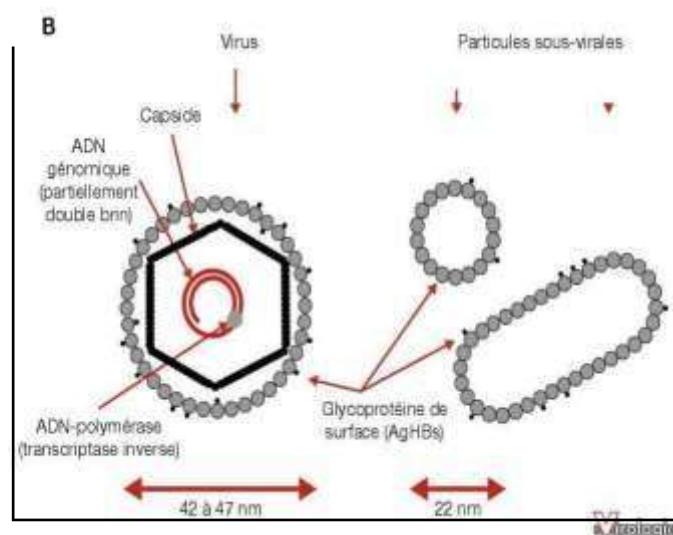
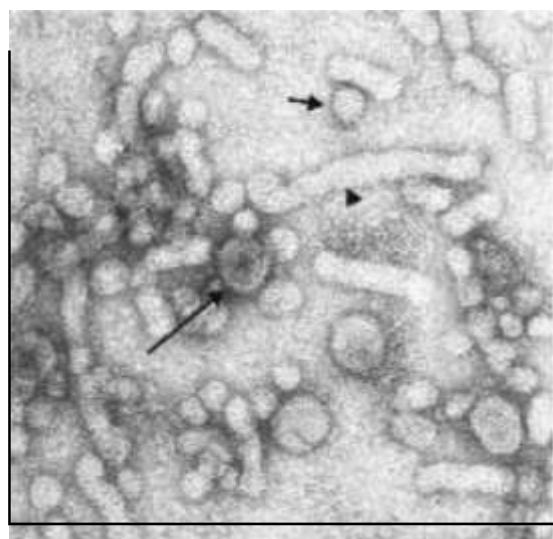


Figure 1: Les différentes formes virales du VHB.

A. Micrographie obtenue en microscopie électronique à transmission d'un sérum de patient infecté par le HBV. Trois types différents de particules sont mises en évidence : (i) des particules virales infectieuses appelées particules de Dane (grande flèche), (ii) des particules sous-virales (PSV) non infectieuses de forme sphérique (flèche moyenne) et (iii) des PSV non infectieuses de forme allongées en bâtonnet (tête de flèche).

B. Représentations schématiques de la structure des particules du HBV. [6]

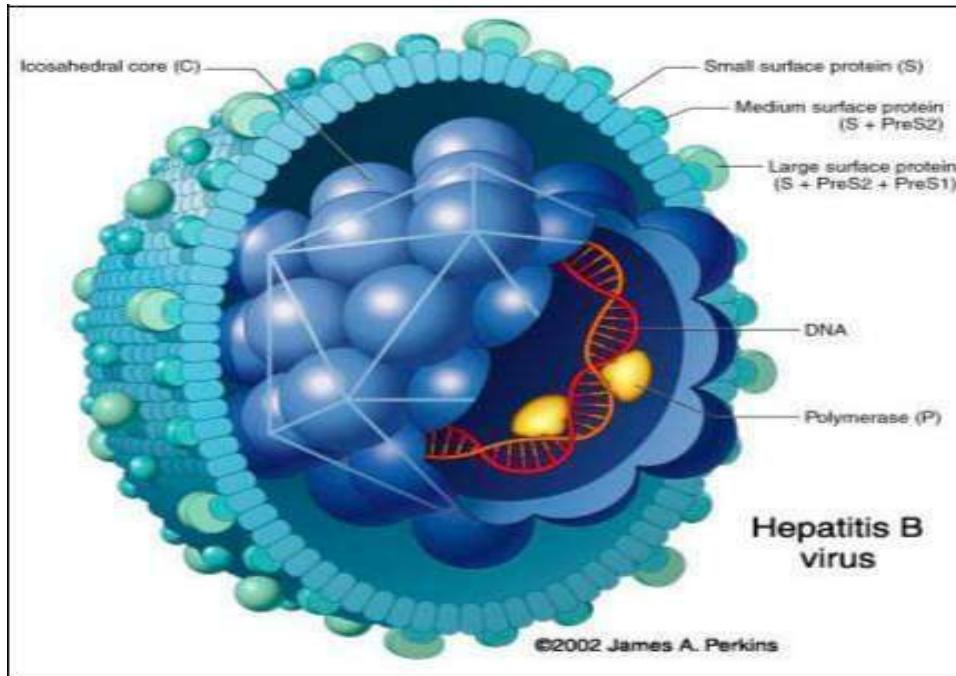


Figure 2: Structure de la particule de Dane (A. Goffard, 2010)

2) STRUCTURE ET SPECIFICITE ANTIGENIQUE DU VHB

2.1 Classification

Le VHB appartient au groupe des Pararétrovirus à ADN double brin (Groupe taxonomique VII du règne des Virus selon la classification de Baltimore) ; ces pararétrovirus ont recours à une activité de rétro-transcription au cours de leur réplication. Le VHB appartient à la famille des Hepadnaviridae et au genre Orthohepadnavirus. Il est considéré comme le prototype de la famille des hépadnavirus telle que définie par le comité international de taxonomie des virus.[7]

2.2 Structure du virus

L'examen en microscopie électronique du sérum d'un sujet infecté par le VHB révèle trois types de particules (Figure 1) : la particule de Dane (particule virale) et les particules sous-virales (formes sphériques et filamenteuses).

Les formes sphériques (17 à 25 nm de diamètre) et les formes filamenteuses (17 à 25 nm de diamètre et plusieurs centaines de nanomètres de long) sont les plus nombreuses (jusqu'à $10^{13}/\text{ml}$ de sérum) et ne sont pas infectieuses ; elles correspondent à une synthèse en excès des protéines d'enveloppe du VHB, et pourraient servir à absorber des anticorps neutralisants contre les antigènes de surface, permettant ainsi au virus d'échapper à l'hôte.

La particule de Dane ou virion (Figure 2), de 42 nanomètres de diamètre, est la particule infectieuse dont la concentration dans le sérum varie et peut atteindre 10^9 particules/ml. Le virion comprend :

- Une enveloppe lipoprotéique constituée majoritairement par trois glycoprotéines virales : la protéine S (small, également connue sous le nom d'Ag HBs) et les protéines M (middle) et L (large).
- Une nucléocapside de structure icosaédrique de 25-27 nm de diamètre, comportant les antigènes de capsidé HBC (ou protéine C) : elle contient l'ADN viral et l'ADN polymérase virale.

L'ADN partiellement double brin du VHB est représenté par les lignes noires au centre. Le trait pointillé représente l'extrémité variable du brin (+). Les flèches en couleur représentent les 4 cadres ouverts de lecture (S, C, P, X) situés sur le brin négatif. Les différentes positions nucléotidiques sont également indiquées par les nombres sur la figure.[9]

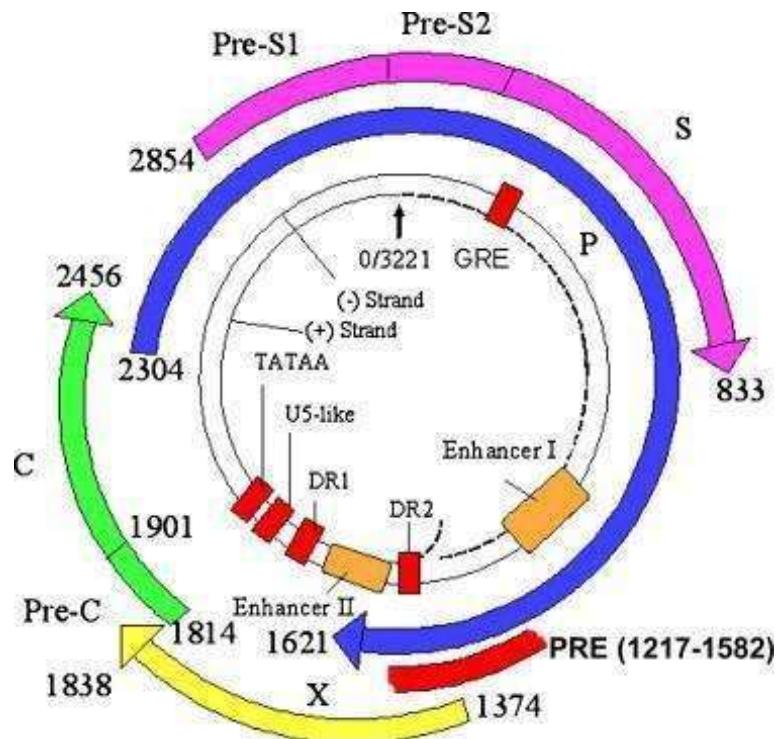


Figure 3: Organisation du génome du virus de l'hépatite B

2-3 RéPLICATION de l'HBV

Le cycle de réplication du VHB se déroule en plusieurs étapes :

- 1) Fixation et entrée du virus
- 2) Libération de la nucléocapside virale
- 3) Transport de la nucléocapside vers le noyau
- 4) Synthèse de l'ADNccc
- 5) Transcription virale
- 6) Traduction des ARNm
- 7) Encapsidation de pgARN
- 8) Transcription inverse
- 9) Synthèse du brin plus d'ADN
- 10) recyclage de la nucléocapside vers le noyau
- 10') Bourgeonnement des particules virales
- 11) Sécrétion [10]

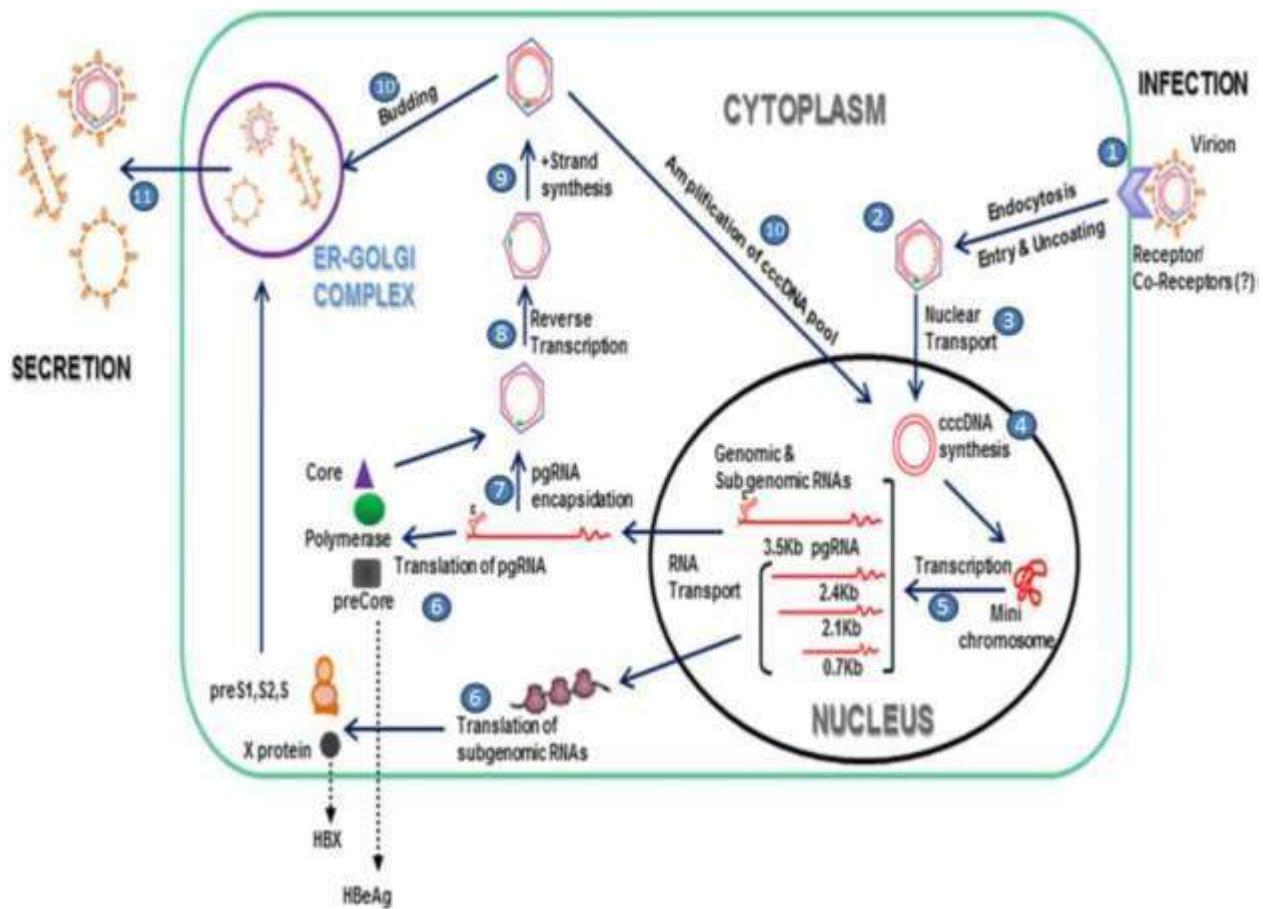


Figure 4: Cycle de réPLICATION du VHB

3) Epidémiologie du Virus de l'Hépatite B

3.1 Répartition géographique de l'hépatite B

Dans le monde, on distingue 3 zones d'infection de prévalence variable (Figure 6) :

- __ Des zones de faible endémicité tel que les Etats-Unis, l'Europe du Nord, l'Australie, et certaines régions d'Amérique du Sud, où la prévalence est inférieure à 2%
- __ Des régions à prévalence intermédiaire : c'est le cas du Moyen Orient, de certains pays d'Europe de l'Est et le bassin Méditerranéen où le taux de porteurs de l'Ag HBs est compris entre 2 à 8%.

- Des régions à forte prévalence de l'Ag HBs, comme les républiques d'Asie centrale, l'Asie du Sud-Est, l'Afrique sub-saharienne et le bassin d'Amazonie où la prévalence de l'hépatite B est supérieure à 8%.

3-2) Prévalence du VHB

En Afrique, environ 65 millions de personnes sont des porteurs chroniques du VHB [52].

On distingue deux zones de prévalence différentes :

- L'Afrique du Nord qui fait partie des zones de moyenne endémicité. Par exemple, la prévalence de l'Ag HBs est de 2,15% en Algérie (Enquête Nationale 1998) et est comprise entre 4 et 7% en Tunisie selon les études [11].
- L'Afrique Sub-saharienne qui fait partie des zones de haute endémicité où la prévalence de l'Ag HBs est supérieure à 8%. En effet, des études ont montré une prévalence de 24,9% au Mali en 2009 [12], 18,3% en Mauritanie en 2012. [14]

Au Sénégal, le Programme National de Lutte contre les Hépatites (PNLH) a renseigné en 1999 que 85 % de la population Sénégalaise a au moins un marqueur du VHB.

Le PNLH a également estimé à 17% le taux de porteurs chroniques du VHB dans la population; ce taux s'est abaissé à 11% en 2012 d'après le Ministère de la Santé.

En 2011, le Centre National de Transfusion Sanguine (CNTS) estime à 9,6% la prévalence de l'Ag HBs chez les donneurs de sang.[54]

Chez les femmes enceintes, la prévalence de l'Ag HBs est estimée à 11.7% en 2012[15]

Une étude réalisée au Sénégal en 2004, par Sall Diallo et collaborateurs dans les régions de Thiès et Dakar, sur des enfants âgés de moins de 5 ans, a montré une forte prévalence de l'infection à HBV avec une prédominance de l'infection chronique par rapport à l'infection aiguë [16].

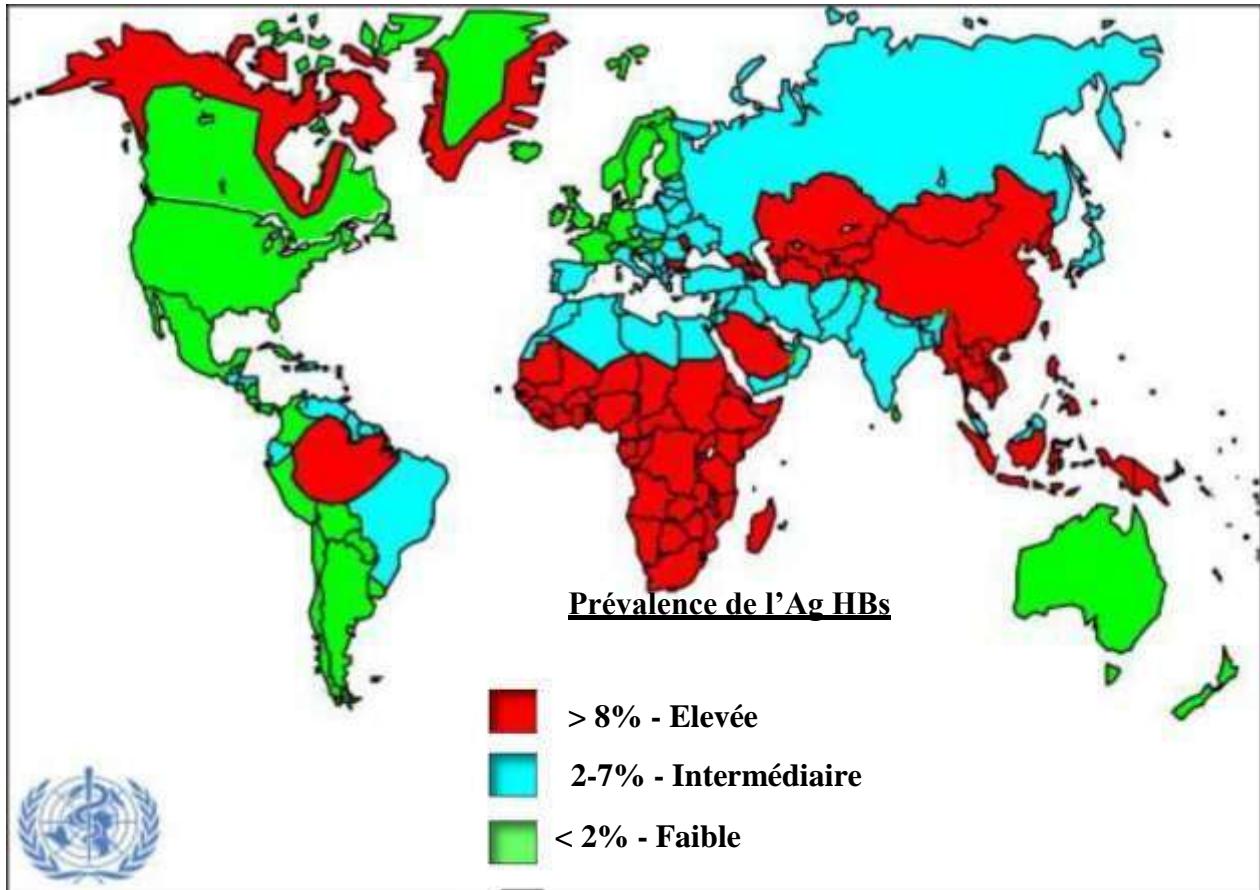


Figure 5: Répartition mondiale de la prévalence du portage de l'Ag HBs

Les différentes couleurs indiquent les prévalences variables selon les régions : on distingue des régions de forte endémie (en rouge) avec une prévalence supérieure à 8%, des zones d'endémie intermédiaire en bleu avec une prévalence de 2-7%, et des zones de faible endémie (en vert) avec une prévalence inférieure à 2%. [17]

3.3. Modes de transmission du VHB

Depuis sa découverte, le VHB est connu comme étant transmis par les seringues contaminées par du sang infecté. De tous les fluides corporels, le sang est celui qui contient les concentrations les plus importantes de virus. Cependant, l'Ag HBs est également retrouvé dans d'autres fluides corporels tels que la salive, les sécrétions biliaires et pancréatiques, le sperme, les sécrétions vaginales et les menstrues, le lait maternel et les urines.

Ainsi, il existe différents modes de transmission du virus :

- **La transmission parentérale et nosocomiale**
- **Transmission verticale (périnatale ou materno-foetale)**
- **Transmission par transplantation d'organe**
- **Transmission sexuelle**

4) Clinique

4-1) Infection aiguë par le VHB

-Forme classique

La période d'incubation de l'hépatite B varie de 2 semaines à 4 mois. [18].

Environ 85 % des infections aiguës sont asymptomatiques et la fréquence des formes symptomatiques augmente avec l'âge au moment de la contamination . En effet l'infection aiguë est généralement asymptomatique chez les nouveaux nés et les enfants ; alors qu'elle entraîne une hépatite aiguë icterique dans 30 à 50% des cas chez les sujets adultes [19].

Dans la forme classique, une phase pré-ictérique est observée ; elle dure 3 à 7 jours et se manifeste par des symptômes non spécifiques tels que la fatigue, malaises, anorexie, douleurs au niveau du quadrant supérieur droit ou de syndrome grippal. Les premiers marqueurs sérologiques de l'infection aiguë sont l'Ag HBs, les anticorps anti-HBc (IgM) et l'Ag HBe qui est le signe de la réPLICATION virale. Puis un ictère apparaît et dure généralement 2 à 3 semaines. Durant cette phase icterique, il apparaît sur le plan biologique une augmentation de l'activité des ALAT (plus de 10 à 30 fois les valeurs normales) et une augmentation discrète de la bilirubine.

La résolution de l'hépatite B se produit dans environ 95% des cas chez les patients adultes, dans 20-50% chez les petits enfants, alors qu'elle ne se produit que dans 10% des cas lorsque l'infection aiguë est périnatale. Durant cette phase de guérison, il y a une disparition de l'AgHBs et des anticorps anti-HBc de classe IgM et une apparition d'anticorps anti-HBs et anti-HBc de classe IgG. L'antigène HBe disparaît et les anticorps anti-HBe apparaissent. [20].

Cependant, même chez les patients positifs pour les anticorps anti-HBs et anti-HBc, l'ADN du VHB peut persister de façon permanente sous la forme d'ADNccc. Ainsi, de petites quantités d'ADN viral peuvent être détectées par PCR dans le sérum ou dans le plasma. L'éradication complète ne se produit que rarement. L'immunosuppression peut alors entraîner une réactivation du virus, par exemple, après transplantation d'organe ou lors de la chimiothérapie. [21]

-Forme fulminante

Le VHB est la cause la plus fréquente dans le monde d'hépatite fulminante d'origine virale. Elle complique environ 1 % des hépatites aiguës B symptomatiques et est définie par l'apparition d'une encéphalopathie hépatique caractérisée par une inversion du rythme nycthéméral, un astérixis et un syndrome confusionnel, associés à une diminution du taux de prothrombine (TP< 30%) et du facteur V de coagulation, ayant comme conséquence des hémorragies cutanéo- muqueuses [20]. L'hépatite B fulminante est considérée comme étant due à une lyse massive et immunomédiée des hépatocytes infectés [21], et à une clairance virale rapide. C'est pourquoi, l'Ag HBs et l'ADN viral peuvent être indétectables au moment de la présentation clinique, et le diagnostic n'est effectué que par la présence d'anticorps anti HBc dans le sérum [22].

-Passage à la chronicité

Le problème principal de l'infection virale B, est celui du passage à la chronicité. Le risque de passage à une infection chronique décroît avec l'âge du patient au moment de l'infection.

Chez les sujets adultes, le taux de passage à la chronicité est inférieur à 5% ; il est estimé à 90 % chez les nourrissons infectés à la naissance, et entre 20-50% chez les enfants âgés de 1 à 5 ans [21]

4.2) Forme chronique par le VHB

Classiquement, l'infection chronique par le VHB est définie par la persistance de l'Ag HBs, 6 mois après l'hépatite aiguë.

L'évolution naturelle de l'hépatite B chronique dans l'organisme consiste en 5 phases : la phase de tolérance immunitaire, la clairance immunitaire, le portage inactif, la phase de réactivation de l'hépatite B, et la phase de contrôle immunitaire. Ces phases résultent de l'interaction entre le virus, les hépatocytes et la réponse immunitaire du patient.

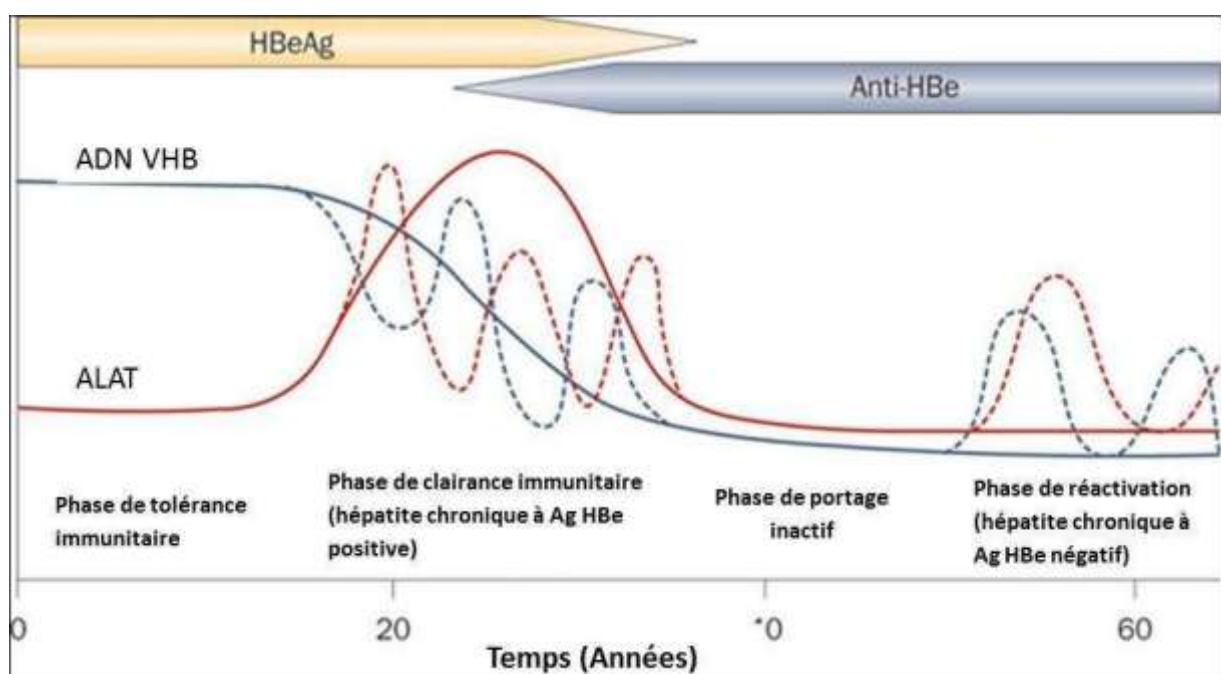


Figure 6: Evolution des marqueurs sérologiques au cours de l'histoire naturelle de l'infection chronique à VHB

L'histoire naturelle du VHB consiste en 4 phases : la phase de tolérance immunitaire, la phase de clairance immunitaire (hépatite chronique à Ag HBe positif), la phase de porteur inactif et la phase de réactivation (hépatite chronique à Ag HBe négatif). L'évolution des taux d'ADN du VHB est représentée en bleu (trait plein) sur la figure, et les transaminases ALAT (Alanine aminotransférase) par un trait plein rouge. Les différentes fluctuations sont représentées en pointillés [23]

4.3 Complications

4.3.1 Cirrhose

La cirrhose est un événement crucial dans l'histoire naturelle de l'hépatite chronique B car les complications propres d'hypertension portale et d'insuffisance hépatocellulaire qu'elle entraîne sont en grande partie responsables de la morbidité et de la mortalité liées à cette infection [20]. De plus, 30% des cas de cirrhose sont attribuables au VHB [2]. Une étude réalisée par Fattovich et ses collaborateurs, en Italie en 1991, sur 105 patients Ag HBs positifs non traités, montre une progression vers la cirrhose dans 20% des cas sur une période de suivi de 3-7 ans [24].

Chez les patients non traités, le taux annuel de progression vers la cirrhose est estimé à 2-6% pour les patients présentant une hépatite chronique à Ag HBe positif, alors que ce taux s'élève à 8-9% chez les patients présentant une hépatite chronique à Ag HBe négatif.

Cette différence des taux peut être expliquée par le fait que les sujets ayant une hépatite chronique à Ag HBe négatif sont le plus souvent à un stade avancé de la maladie, et sont généralement plus âgés.

Les niveaux élevés d'ADN sériques sont considérés comme étant de bons prédicteurs de la progression vers la cirrhose, de même que les taux élevés d'ALAT, et des taux abaissés d'albumine sérique et du temps de prothrombine.[24] D'autres facteurs sont associés à un risque plus important d'évolution vers la cirrhose : le sexe masculin, le génotype C (plus que le génotype B), la surinfection ou la co-infection avec les virus de l'hépatite C ou D, ou le virus de l'immunodéficience humaine (VIH), la consommation fréquente d'alcool, l'obésité, le diabète sucré [18]. Certains facteurs environnementaux sont également associés à un risque plus élevé de cirrhose ; c'est ainsi qu'en 2008, une étude menée en Gambie par Kuniholm et collaborateurs a montré que l'exposition à l'aflatoxine est associée à une

augmentation du risque de cirrhose. L'aflatoxine semble interagir en synergie avec le VHB pour augmenter ce risque.[2]

4.3.2 Carcinome hépatocellulaire

Le carcinome hépatocellulaire représente le 6^e cancer le plus fréquent dans le monde et la 3^e cause de mortalité liée au cancer. [25]. De plus, 53 % des cas de CHC sont attribuables au VHB. [2].

De même, au Sénégal, le PNLH en 2001 estimait à 80 % la prévalence de l'hépatite B dans les hépatocarcinomes.

En effet, une forte corrélation entre l'incidence du CHC et la prévalence de l'Ag HBs ou des anticorps anti-HBc a été mise en évidence lors d'une étude réalisée à Taïwan par Beasley et ses collègues. [26] La figure 9 illustre bien cette similitude entre la distribution géographique de l'infection chronique à HBV et celle du CHC.

D'autres facteurs de risque pour le CHC ont été décrits, c'est le cas des niveaux élevés d'ADN viral, une durée d'infection plus longue, l'histoire familiale du CHC, la situation géographique (surtout les Asiatiques et les Africains), le génotype (le génotype C plus atteint que le B), mutations au niveau du promoteur core, la séroconversion HBe, la co-infection par le virus de l'hépatite C, la consommation importante d'alcool, le tabac, l'obésité et le diabète sucré [18].

A côté de ces facteurs indirects, certaines études ont suggéré des facteurs viraux directs de l'hépatocarcinogénèse. L'intégration de l'ADN du VHB dans l'ADN cellulaire de l'hôte, dans certaines situations, agit en perturbant ou en favorisant l'expression de gènes cellulaires. De

plus, la protéine HBx a été impliquée dans le CHC [17 ,1].

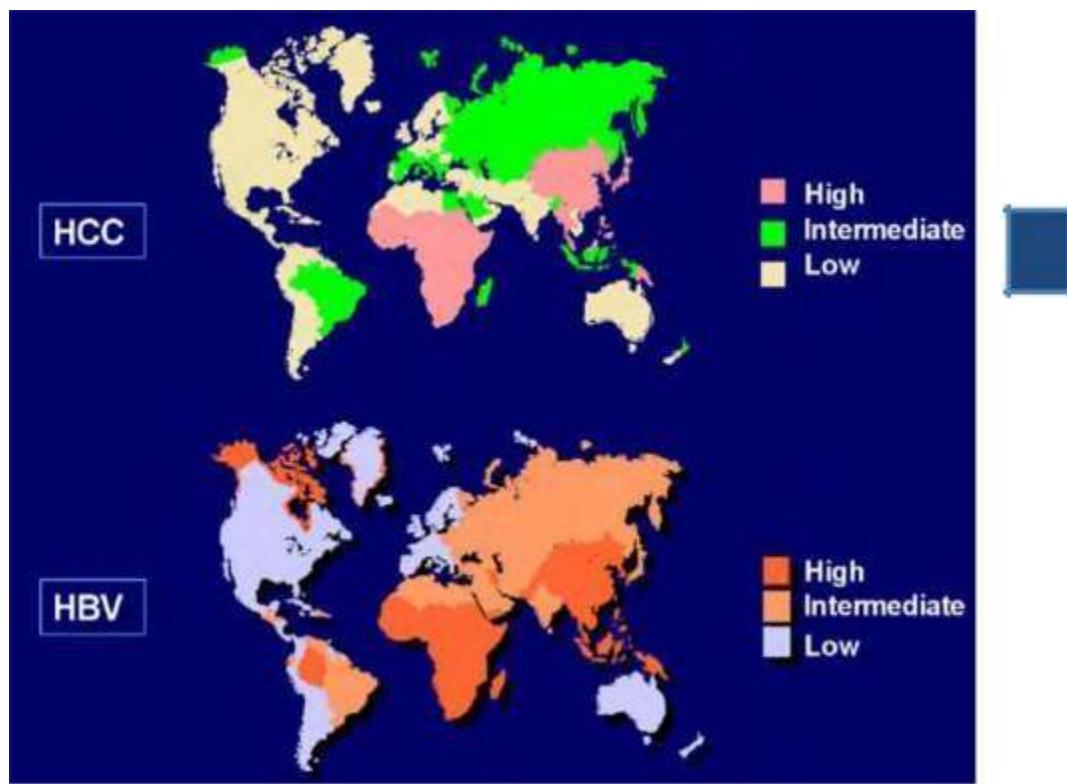


Figure 9 : La distribution géographique parallèle de l'incidence du CHC (a) et celle de l'infection chronique au VHB (b)

5) Diagnostique biologique du VHB

5.1 Diagnostic virologique de l'infection à VHB

Il s'agit de la recherche des antigènes viraux et des anticorps spécifiques.

5.1.1 Recherche des antigènes viraux

Cette recherche constitue le diagnostic direct (à côté de l'examen microscopique, de la culture et de la détection de l'ADN viral).

En pratique, les Ag HBs et Ag HBe sont mis en évidence dans le sérum par des techniques immuno-enzymatiques de type ELISA « sandwich », chez les sujets porteurs du virus. Ces techniques sont basées sur le principe de la capture directe de l'antigène par des anticorps spécifiques.

La recherche de l'Ag HBs peut également être réalisée par des tests rapides reposant sur des méthodes d'agglutination, d'immunofiltration, ou d'immunochromatographie.

L'Ag HBs est un élément essentiel pour le diagnostic d'une infection par le VHB. Il est le premier marqueur sérologique détecté au cours d'une infection aiguë avant l'apparition des premiers symptômes : il peut être détecté en moyenne 1 mois après l'exposition. Lorsqu'il persiste au-delà de 6 mois, l'infection prend l'attribution de chronique.

L'Ag HBe, codé par les gènes préC-C, est également retrouvé dans le sérum. Il est le signe de la réPLICATION virale active. Cependant dans certains cas (mutants pré-C), l'Ag HBe n'est pas détecté malgré une multiplication importante du virus.

L'Ag HBc est intracellulaire, il n'est pas détecté dans le sérum. En revanche on le détecte sur une coupe de foie par immunofluorescence ou immuno-peroxydase, lorsqu'une biopsie hépatique est réalisée [28,27].

5.1.2 Recherche des Anticorps spécifiques.

Il correspond au diagnostic indirect : c'est la recherche de la réaction immunologique de l'hôte.

Il s'agit de la détection et éventuellement de la quantification des anticorps dirigés contre les différents antigènes viraux : anticorps anti-HBs, anticorps anti-HBc totaux et la fraction IgM des anti-HBc, et les anticorps anti-HBe.

La présence des anti-HBc reflète un contact avec le virus : les IgM sont témoins d'une infection récente, alors que les IgG, anticorps non neutralisants, témoignent d'une infection chronique en cours ou d'une guérison.

Les anti-HBe sont utilisés pour le suivi du patient et la surveillance de la réponse au traitement. Leur apparition suggère une diminution de la réPLICATION virale, une diminution de l'infectiosité et une rémission de la maladie, ou encore elle peut être le signe d'une mutation pré-core/promoteur core. Dans ce dernier cas, les niveaux d'ADN viral sont très élevés.

Les anti-HBs sont des anticorps neutralisants ; leur présence signifie soit une guérison, soit une immunisation (naturelle ou vaccinale). Une concentration d'anticorps supérieure à 10 mUI/ml signifie que le sujet est protégé. [27,29]

5.1.3 Cinétique et Interprétation des marqueurs sérologiques de l'infection à VHB

5-1-3-1 Cinétique des marqueurs sérologiques

Au cours d'hépatites aiguës

L'Ag HBs est le premier marqueur d'identification de l'infection aiguë (Figure 10). Il est décelé dans le sérum dans les 4-6 semaines suivant la contamination. Les titres de l'Ag HBs augmentent et un pic est observé au début des signes cliniques ou juste après leur apparition. Généralement, l'Ag HBs persiste

pendant 1-5 mois, avec des titres diminuant progressivement puis disparaissant avec l'amélioration et la résolution des symptômes.

Les anticorps anti-HBc sont décelables 6 semaines après l'infection. Ils persistent à un titre élevé durant toute la phase aiguë ; ils sont un marqueur très fiable de l'infection à HBV. Initialement, ces anti-HBc sont constitués à la fois d'anticorps de type IgM et IgG. Puis, les anti-HBc (IgM) diminuent progressivement dès le 4^e mois suivant l'infection, alors que les IgG persistent à long terme.

Les antigènes HBe sont décelés dans le sérum 6 semaines après la contamination. Ils sont témoins de réplication virale. La séroconversion de l'Ag HBe en anticorps anti HBe survient vers la quatorzième semaine. Ces anticorps anti-HBe persistent à long terme dans le sérum.

Les anticorps anti-HBs ne sont pas détectés pendant la phase aiguë de la maladie, mais sont observés pendant la période de convalescence. On observe une fenêtre sérologique dans laquelle les Ag HBs ont disparu alors que les Ac anti-HBs ne sont pas encore présents : il est donc utile de doser les anticorps anti-HBc, dont les IgM anti-HBc. Les anticorps anti-HBs persistent à long terme et sont utilisés comme des marqueurs fiables de guérison et d'immunisation contre le VHB. [30]

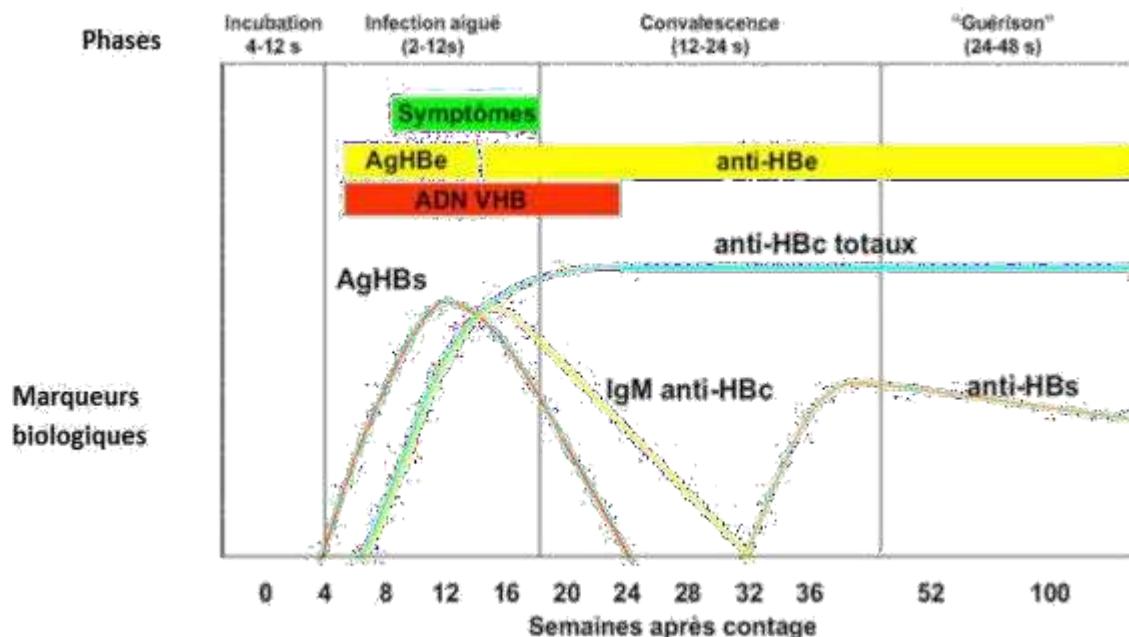


Figure 7: Cinétique des marqueurs virologiques dans le sérum au cours d'une hépatite B aiguë résolutive.

Les barres horizontales vertes, jaunes et rouges représentent respectivement la période symptomatique, l'apparition de l'Ag HBe suivie des anticorps anti-HBe, l'ADN viral. La cinétique de l'Ag HBs (courbe rouge), des IgM anti-HBc (courbe jaune), des anticorps anti-HBc (courbe bleue) et des anticorps anti-HBs (courbe orange) est également représentée [31].

Au cours d'hépatites chroniques

Environ 5% des sujets adultes infectés par le virus de l'hépatite B vont évoluer vers la chronicité. Cette hépatite chronique est caractérisée par la persistance de l'Ag HBs au-delà de 6 mois. L'évolution des marqueurs sérologiques au cours de l'infection chronique est présentée dans la figure 11.

Les anti-HBc sont trouvés à des taux élevés : les IgM diminuent progressivement et disparaissent au 6^e mois, alors que les IgG persistent pendant des années voire toute la vie. L'antigène HBs reste détectable dans le sérum à long terme. La durée de la positivité de l'Ag HBe est variable ; en effet la séroconversion «e» peut survenir mais ne s'accompagne pas toujours de la disparition de l'ADN circulant.

L'ADN viral est détectable dans le sérum durant toute la durée de l'infection et témoigne de

la réPLICATION virale [25,30].

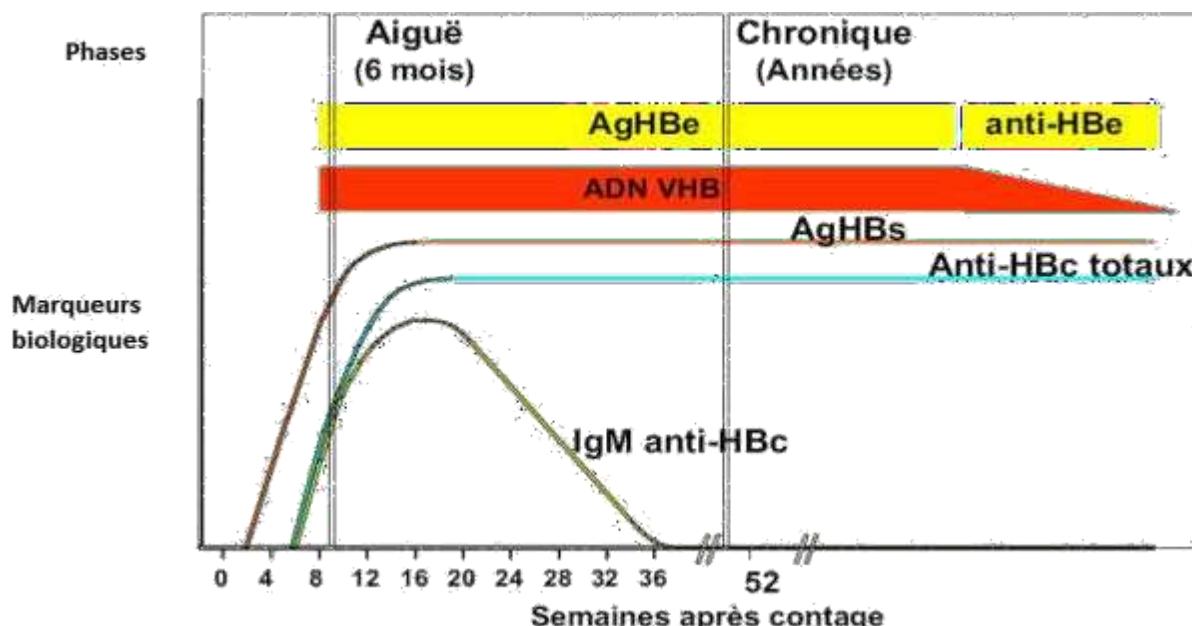


Figure 8: Cinétique des marqueurs virologiques dans le sérum au cours d'une hépatite chronique.

Les barres horizontales jaunes et rouges représentent respectivement les périodes d'apparition de l'Ag HBe et des anticorps anti-HBe, ainsi que l'ADN viral. La cinétique de l'Ag HBs (courbe orange), des IgM anti-HBc (courbe verte) et des anticorps anti-HBc totaux (courbe bleue) est également représentée [31]

Tableau I: Interprétation des résultats de sérologie de l'infection à VHB [9]

5-1-3-2 Interprétation

: Interprétation des résultats de sérologie de l'infection à VHB

[9]								Interprétation
Ag HBs	Anti-HBs	IgM	Anti-HBc totaux	Ag HBe	Anti-HBe	ADN VHB		
HBc								
-	-	-	-	-	-	-	-	Sujet jamais infecté,
+	-	-	+	+	+	-	+	Hépatite aiguë
<hr/>								Hépatite aiguë
+	-	-	+	+	-	+/-	+/-	résolutive
<hr/>								Hépatite chronique susceptible
+	-	-	-	+	+	-	+	(virus sauvage)
<hr/>								Hépatite chronique
+	-	-	-	+	-	+	+	(virus mutant pré-C)
<hr/>								Porteur sain
<hr/>								-Immunisation post-vaccinale
-	+	-	-	-	-	-	-	

								- Transfert passif d'immunoglobulines
								Immunisation post-
-	+	-	+	-	+/-	-	-	infectieuse (guérison)
-	-	-	-	-	-	-	-	- Infection ancienne
-	-	-	-	-	-	-	-	- Infection aiguë en guérison
-	-	-	-	-	-	-	-	- Faux positif, donc sujet
-	-	-	+	-	-	-	-	susceptible
-	-	-	-	-	-	-	-	- Transfert passif à un nouveau-né de mère Ag HBs +

5.2 Diagnostic moléculaire de l'infection à VHB.

Il s'agit de la détection et de la quantification de l'ADN du VHB. La quantification de l'ADN du VHB reflète la réPLICATION virale hépatique et permet de suivre l'évolution de l'hépatite chronique. Cette charge virale peut être mesurée soit par des techniques d'hybridation, soit par amplification génique. Cependant, les techniques d'amplification par PCR (*Polymerase Chain Reaction*) du génome viral sont les plus sensibles.

Dans le sérum/plasma, la détection et la quantification de l'ADN viral nécessite une étape préliminaire d'amplification. Ainsi, il existe deux types de techniques qui permettent soit l'amplification du signal soit l'amplification de la cible.

5.2.1 Techniques d'amplification du signal

Il s'agit des méthodes d'hybridation, et de la méthode de « l'ADN branché » bDNA (branched DNA). Le principe de l'amplification du signal repose sur l'hybridation dans un premier temps du génome viral sur des sondes oligonucléotidiques d'ARN, et les hybrides formés sont capturés par des anticorps anti-hybrides. Puis, des anticorps conjugués se fixent sur les hybrides et le signal émis par fluorescence est amplifié et mesuré. [32] Quatre tests reposant sur l'amplification du signal sont actuellement commercialisés : trois tests fondés sur l'hybridation, l'HBV Digene Hybrid-Capture I, l'HBV Digene Hybrid-Capture I et l'Ultra-sensitive HBV Digene Hybrid-Capture II (Digene Corp., Gaithersburg, Maryland, Etats-Unis) et un test fondé sur la méthode des « ADN branchés », le VersantTM HBV DNA 1.0 Assay (Bayer corp., Tarrytown, Etats-Unis) [33].

5.2.2 Techniques d'amplification de la cible

Elles reposent sur la synthèse au cours d'une réACTION enzymatique cyclique d'un grand nombre de copies d'ADN du VHB (amplicons). Ces derniers pourront ensuite être détectés par différentes méthodes et la quantité d'ADN viral dans l'échantillon pourra alors être déterminée. Les techniques d'amplification de la cible sont représentées par la PCR et par la TMA (Transcription-mediated amplification).

5.2.2.1 *Transcription mediated amplification*

C'est une réaction isotherme utilisant 2 enzymes : la transcriptase inverse qui permet la synthèse de l'ADNc double brin et la T7 RNA Polymérase qui effectue la transcription de l'ADN en ARN. Les amplicons obtenus sont de l'ARN simple brin.

Après lyse de l'enveloppe virale, l'ADN viral est capturé par des sondes oligonucléotidiques et se fixe sur des microparticules magnétiques. Chaque ARN nouvellement formé rentre à nouveau dans le processus de TMA et sert de matrice pour la série suivante, résultant en une amplification exponentielle [32].

5.2.2.2 *Polymerase chain reaction*

Contrairement à la TMA, la PCR utilise plusieurs températures et une seule enzyme (l'ADN polymérase thermostable) et est réalisée après extraction de l'acide nucléique.

La PCR est basée sur la capacité de l'ADN polymérase à synthétiser le brin complémentaire d'un ADN servant de matrice (appelé ADN cible). Pour initier le processus, un segment d'acide nucléique doit s'y associer afin de servir d'amorce. Les amorce sont de courtes séquences d'oligonucléotides complémentaires aux bornes 5' et 3' de la séquence ciblée.

Etant donné que la réaction d'amplification est saturable, ces méthodes ont une plage étroite de quantification. Toutefois, ce problème a alors été résolu par le développement de techniques de PCR en temps réel pour lesquelles la quantification se fait durant la phase exponentielle de la réaction d'amplification

5.2.3 *PCR en temps réel*

Elle utilise le principe de base de la PCR classique (amplification cyclique d'un fragment d'ADN, basée sur une réaction enzymologique) avec pour différence une amplification mesurée non pas à la fin, mais tout au long de la réaction, donc en temps réel. L'amplification est réalisée de façon constante à un taux exponentiel à l'aide d'une ADN polymérase thermostable. Après la phase

exponentielle, la réaction d'amplification entre dans une phase linéaire où le taux d'amplification devient extrêmement variable.[34]

Il s'en suit ensuite une phase plateau, générant très peu d'amplicons. Cette baisse du taux d'amplification résulte en partie de l'inactivation thermique partielle de l'ADN polymérase au cours des derniers cycles et du fait que les produits nécessaires à l'amplification (notamment dNTP et amorces) deviennent limitants. A chaque cycle d'amplification, la quantité d'ADN est mesurée grâce à un marqueur fluorescent (« reporter ») dont l'émission est directement proportionnelle à la quantité d'amplicons produits. L'augmentation du signal fluorescent est directement proportionnelle à la quantité d'amplicons générés durant la réaction de PCR. En observant la quantité de fluorescence émise à chaque cycle, il devient possible de suivre la réaction PCR durant sa phase exponentielle où la première augmentation significative dans la quantité d'amplicons est en corrélation directe avec la quantité initiale de la matrice originale cible (*template*) [34] . Il est alors possible de tracer une droite (Cf Figure 9) représentant l'intensité du signal fluorescent émis en fonction du cycle.

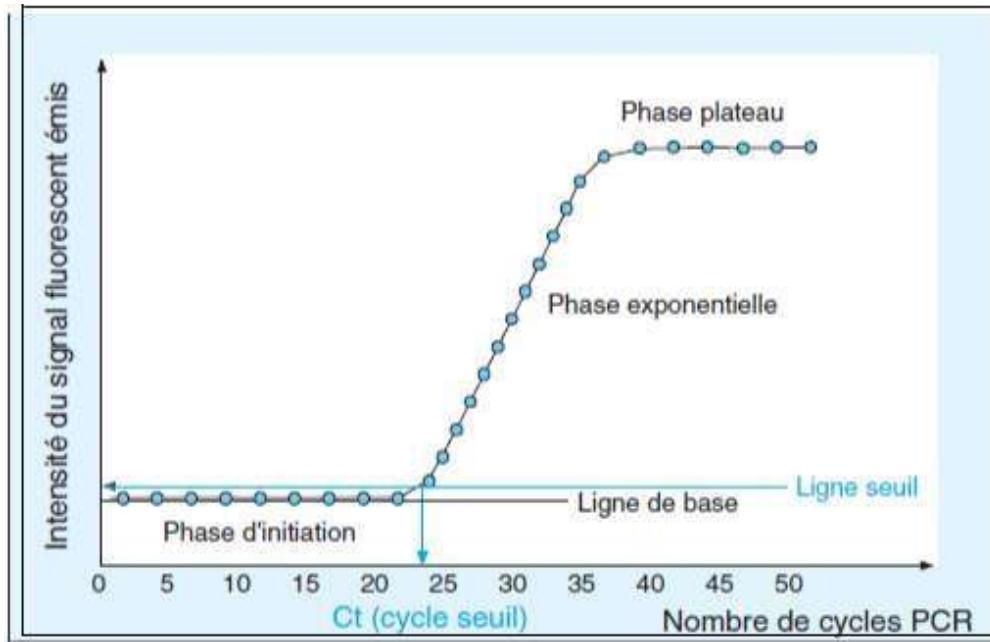


Figure 9: Cinétique de la réaction de PCR en temps réel

Au cours des premiers cycles d'amplification, l'intensité de la fluorescence émise est très faible et va permettre de définir la ligne de base de la courbe. Après un certain nombre de cycles, l'accumulation des produits de PCR entraîne une variation mesurable de l'intensité de la fluorescence émise.

Le point de départ de la phase exponentielle, est appelé cycle seuil optique noté Ct (*threshold cycle*). Plus précisément, le cycle seuil est le nombre fractionnaire de cycles pour lequel l'intensité de la fluorescence émise a dépassé une valeur seuil significativement différente du bruit de fond. Le cycle seuil se trouve inversement proportionnel au logarithme du nombre de molécules d'acide nucléique cible initialement présentes avant amplification par PCR.

5.2.4 Expression des résultats de charge virale

Les taux sériques d'ADN viral (ou charge virale) sont reportés en différentes unités (copies/ml, Equivalents/ml, Méga-équivalents/ml ou Unités Internationales UI/ml) selon la technique utilisée et le fabricant du test. L'OMS a donc défini un standard international pour la quantification de l'ADN du VHB . L'expression de la charge virale en UI/ml facilite ainsi la comparaison de différents tests. Des facteurs de conversion peuvent être utilisés pour établir la relation entre les UI/ml et les unités de quantification non standardisées. (Tableau VI)

Tableau VI: Conversion des copies d'ADN VHB/ml en UI/ml

TEST	FACTEUR DE CONVERSION
Versant HBV DNA 3.0 (bDNA) (Siemens Diagnostics)	1UI/ml = 5.6copies/ml
Cobas Amplicor HBV monitor (Roche Molecular Systems)	1UI/ml = 5.6copies/ml
Cobas Taqman 48 HBV (Roche Molecular Systems)	1UI/ml = 5.8copies/ml
Real Art HBV PCR assay(Artus-Biotech)	1UI/ml = 5.8 copies/ml
Abbott RealTime HBV m2000	1UI/ml = 3.41 copies/ml

5.3 Suivi de l'infection chronique

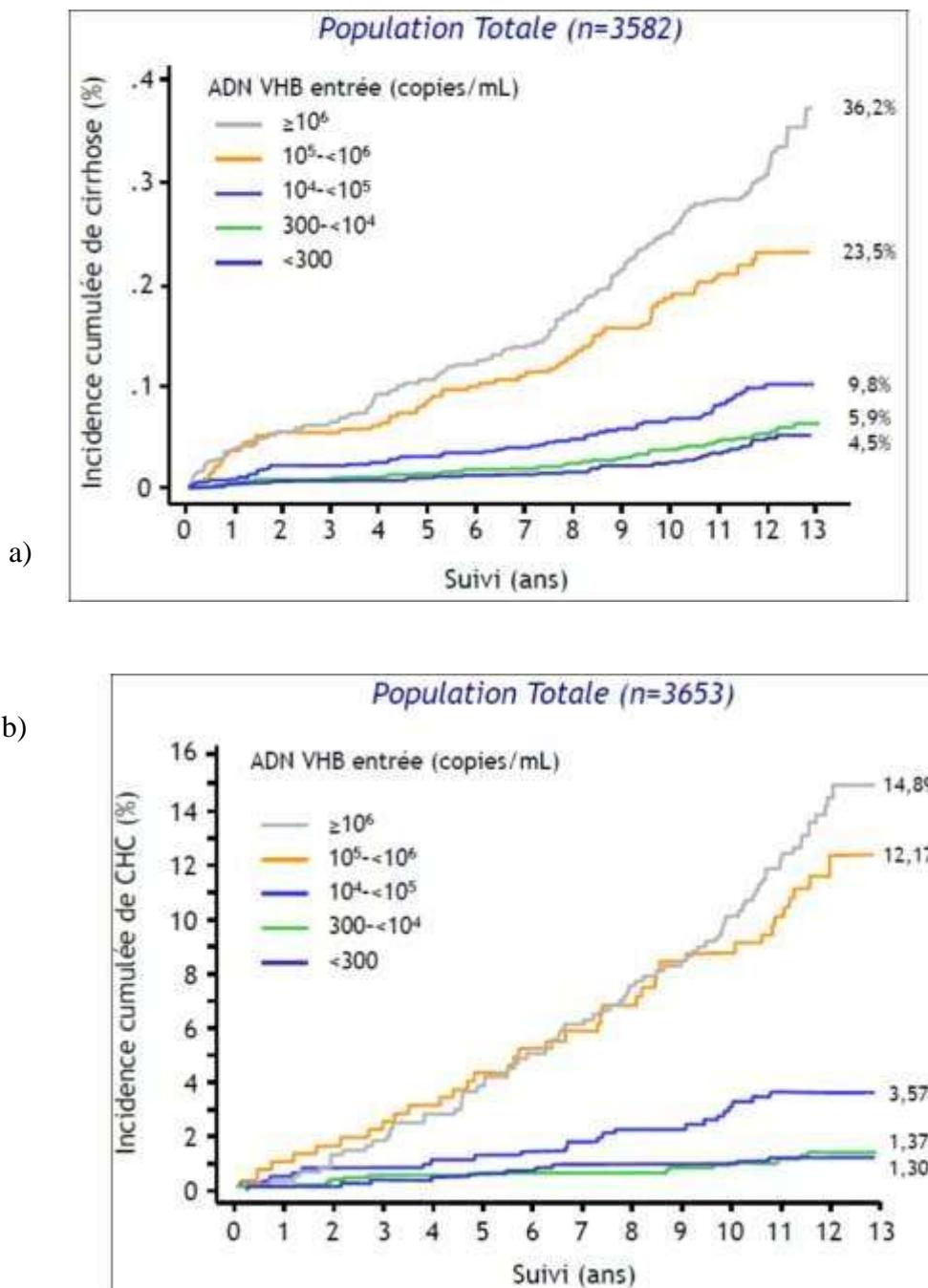
5.3.1 Bilan de base

Pour les patients atteints d'hépatite B chronique, un examen initial doit être effectué pour déterminer de manière précise le stade de l'infection. Cet examen consiste en un bilan hépatique (γ GT, PAL, ALAT, ASAT, bilirubine), un bilan hématologique (hémogramme, TP), recherche de marqueur tumoral (AFP : alpha-foetoprotéine), échographie abdominale, ponction biopsie hépatique (PBH) avec établissement du score METAVIR, diagnostic des co-infections (VIH, VHC, VHD, VHA).

5.3.3 Charge virale et suivi de l'évolution de l'hépatite B chronique.

La charge virale correspond à la quantité de molécules virales circulant dans l'organisme ; elle est un élément essentiel pour le suivi de l'hépatite B chronique afin de prévenir les éventuelles complications de l'infection.

Il a été démontré que la charge virale permettait d'évaluer le risque d'évolution vers un cancer du foie : un niveau élevé de charge virale, supérieur à 10 000 copies/ml est un important prédicteur de risque d'évolution vers un carcinome hépatocellulaire (CHC) .Une charge virale élevée prédit également le risque d'apparition de cirrhose. [35] (Figure 13).



10 : a) Incidence cumulée de cirrhose en fonction de la charge virale ((C Hézode, 2011) Adapté des travaux. (U. H. Iloeje, et coll., 2006)[51])
b) Incidence cumulée de CHC en fonction de la charge virale.[36]

10 :b) L'incidence cumulée de cirrhose et de CHC est nettement supérieure chez les sujets présentant une charge virale de base supérieure à 10^6 copies/ml par rapport à ceux pour qui la charge virale est plus faible

6- Traitement de l'hépatite B chronique

6.1 Le but du traitement

L'objectif du traitement pour les patients atteints d'hépatite B chronique est de limiter le plus possible la réPLICATION virale afin de prévenir la progression de la maladie vers la cirrhose, la décompensation hépatique, le CHC et éventuellement la mort.

Cependant, l'éradication complète de l'infection chronique est difficile à cause de l'intégration de l'ADN viral dans le noyau de l'hépatocyte sous forme d'ADNccc, appelé encore ADN superenroulé. Cet ADN superenroulé a une demi-vie extrêmement longue et se maintiendrait dans la cellule infectée ce qui pourrait expliquer la réactivation du virus et favoriserait l'oncogénèse et le développement de CHC [37].

Tableau II: Directives de l'EASL pour le traitement de l'hépatite B chronique

(Adapté de Graham S Cooke,

HBV DNA (UI/ml)	ALT (UI/ml)	Fibrose du foie		Traitements ?
		Fibroscan	Biopsie	
>2000	>40	>5	F >1	Traiter
Détectable		>10	F >3	Traiter
<2000	<40	<5 —	F <1 —	Observer
>2000	<40	>5	F >1	Traiter
<2000	>80	>5	F >1	Traiter

http://www.iapac.org/icvh/presentations/ICVH2013_Plenary2_Cooke.pdf

6.3 Les stratégies thérapeutiques

Actuellement, il existe 2 différentes stratégies thérapeutiques applicables à la fois chez les malades atteints d'hépatite B chronique antigène HBe positif et HBe négatif.

Un traitement immunomodulateur à durée limitée avec l'interféron (IFN) ou l'IFN-pégylé (PEG-IFN), et un traitement à long terme par des antiviraux, les analogues nucléos(t)idiques.

IFN/ PEG-IFN

L'interféron est une cytokine synthétisée au cours de l'infection virale. Leur action repose principalement sur l'inhibition de la réPLICATION virale, l'activation des lymphocytes T cytotoxiques et de cellules NK, et l'augmentation de l'expression de HLA I à la surface des cellules infectées (ce qui facilite la reconnaissance des hépatocytes infectés).

Le PEG-IFN a remplacé l'IFN standard dans le traitement de l'hépatite B chronique principalement en raison de son utilisation plus facile (le produit est administré une fois par semaine).

Les principaux avantages théoriques de l'interféron alpha (conventionnel ou pégylé) sont l'absence de résistance, le potentiel immunitaire de contenir l'infection par le VHB avec la possibilité d'obtenir une réponse virologique prolongée après le traitement et une chance de perte de l'Ag HBs chez les patients qui obtiennent et maintiennent des niveaux indétectables de charge virale. Cependant, de fréquents effets secondaires et l'administration par injection sous-cutanée sont les principaux inconvénients du traitement par interféron alpha. De plus, l'interféron alpha est contre-indiqué chez les malades souffrant de cirrhose post-virale B décompensée, de maladie auto-immune, en

cas de dépression ou de psychose sévère ainsi que chez les femmes en état de grossesse.

Pour les patients atteints d'hépatite B chronique AgHBe positif, les facteurs pré-thérapeutiques prédicteurs de la séroconversion HBe sont : une charge virale basse (inférieure à 10^7 UI/ml), des niveaux élevés d'ALAT sérique (au-delà de 2-5 fois la limite supérieure de la normale), le génotype du VHB(il a été démontré que les génotypes A et B étaient associés à un taux plus élevé de séroconversion HBe et HBs que les génotypes D et C après le traitement avec le (PEG-)IFN)et un score élevé d'activité à la biopsie hépatique(au moins A2 dans le score Metavir). Concernant les sujets AgHBe négatif, il n'y a pas de facteurs prédicteurs de la réponse au traitement (**EASL, 2012**)

Les analogues nucléos(t)idiques

Les principaux analogues nucléosidiques sont la lamivudine, l'entécavir, la telbivudine) et les

Analogues nucléotidiques : l'adéfovir et le ténofovir.

L'Entécavir et le ténofovir sont de puissants inhibiteurs de la réPLICATION du VHB et ont une haute barrière de résistance. Ainsi, ils peuvent être utilisés avec confiance en monothérapie de première ligne. La lamivudine, la telbivudine et l'adéfovir peuvent être utilisés pour le traitement de l'hépatite B chronique dans le cas où les deux premières molécules ne sont pas disponibles ou non appropriées.

La Lamivudine est un agent peu coûteux, mais engendre des taux très élevés de résistance en monothérapie à long terme. L'adéfovir est moins efficace et plus coûteux que le ténofovir, et engendre des taux de résistance plus élevés chez des malades avec un niveau de réPLICATION virale élevé avant le traitement ainsi que chez ceux présentant des niveaux détectables d'ADN viral après 6 mois de traitement (**EASL, 2012**)[37].

L'incidence de la résistance au traitement au bout de 5 ans par ces différents analogues est représentée dans la figure 14.

Un traitement au long cours par les analogues est nécessaire pour les patients qui ne peuvent obtenir une réponse virologique soutenue sans traitement et qui nécessitent un traitement prolongé ; c'est à dire pour les patients Ag HBe-positifs qui ne développent pas une séroconversion anti-HBe et pour les patients Ag HBe négatifs. Cette stratégie est également recommandée chez les patients atteints de cirrhose, quel que soit leur statut HBe. Toutefois, il est optimal de maintenir la suppression de l'ADN du VHB à un niveau indétectable par PCR en temps réel quel que soit le médicament utilisé.(EASL, 2012)[37]

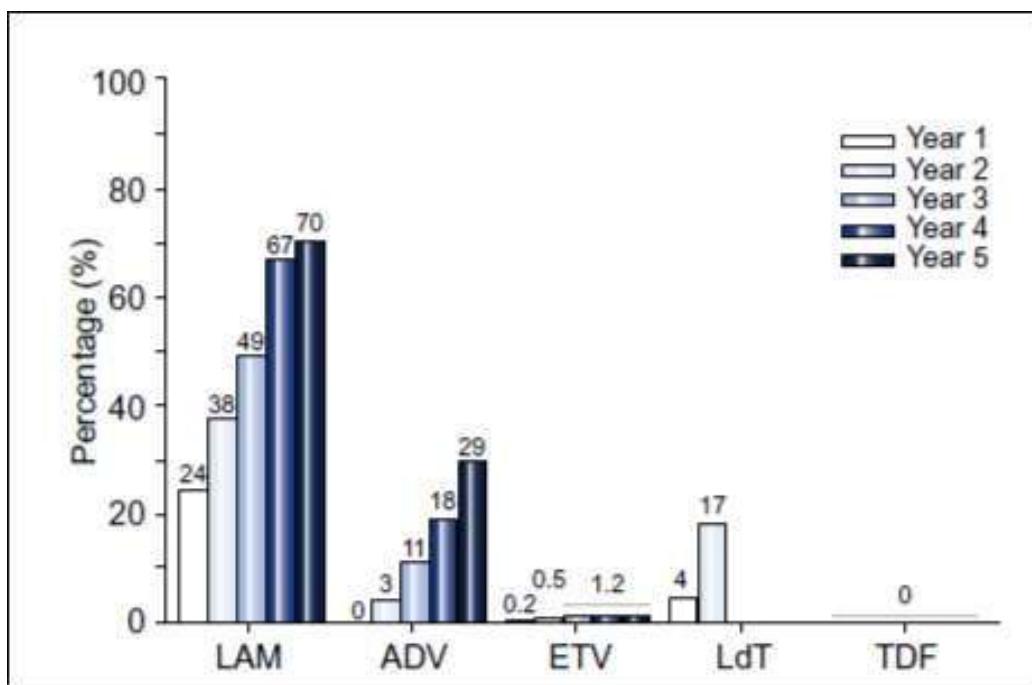


Figure 10: Incidence cumulée de la résistance aux médicaments antiviraux au cours d'essais-pivots chez des patients atteints d'hépatite B chronique, naïfs aux analogues nucléos(t)idiques (EASL, 2012)[37]

6.5 Intérêt de la mesure de la charge virale au cours du traitement anti-VHB

Comme vu précédemment, la quantification de l'ADN viral s'est avérée utile pour la prise de décision de la mise en place du traitement antiviral. La mesure de la charge virale est également importante pour prévoir la réponse au traitement et pour déterminer son efficacité.

En effet, Perillo et collaborateurs, au cours d'un essai randomisé portant sur le traitement par l'IFN-alpha avec ou sans prednisone, affirmèrent que le taux sérique d'ADN viral avant le début du traitement était le plus important prédicteur de la réponse au traitement. En effet, ils trouvèrent qu'environ 50% des patients présentant une charge virale de base inférieure à 100 pg/ml (soit $2,8 \cdot 10^7$ copies/ml) répondaient mieux au traitement par 5 MUI d'IFN alpha, alors que seulement 7% des patients présentant une charge virale de base supérieure à 200 pg/ml(soit $5,6 \cdot 10^7$) répondaient à ce même traitement [39]

Une étude réalisée en 2004 par Eijk et coll. aux Pays-Bas, approuve qu'une quantification de l'ADN du VHB pouvait être utilisée pour une identification précoce d'une non-réponse à

l'IFN-alpha et qu'une surveillance du patient par cette mesure était meilleure que sa surveillance par une quantification de l'Ag HBe. Alors, un test de quantification réalisé à 12 semaines de traitement pourrait être utilisé comme un outil de suivi permettant une décision sur la poursuite du traitement ou sur son ajustement. De plus cette étude montre qu'une mesure de la charge virale avant le début du traitement, associée à une baisse de la charge virale entre cette première mesure et celle réalisée à la 12^e semaine avaient une haute valeur prédictive pour l'identification des patients ayant peu de chance de parvenir à une réponse thérapeutique avec l'IFN-alpha. [26]

De plus, la surveillance des niveaux d'ADN viral est indispensable pour évaluer la réponse initiale au traitement antiviral, et pour déterminer si cette réponse est

maintenue au cours du traitement. Cette surveillance permettra alors de prédire une rémission de la maladie hépatique, ou l'apparition d'une résistance médicamenteuse.

L'EASL a ainsi défini les différents types de réponses virologiques en fonction des variations de la charge virale au cours du traitement par des analogues nucléos(t)idiques (**EASL, 2012**)[37]. Tout d'abord, une absence de réponse a été définie comme une baisse de la charge virale inférieure à 1 log 10 UI/ml entre la mesure de base et le 3^e mois de traitement.

Concernant la réponse virologique, elle est définie par un niveau indétectable d'ADN viral par une technique sensible de PCR. Cette quantification est généralement faite tous les 3 à 6 mois durant le traitement.

Une réponse virologique partielle correspond à une diminution de plus de 1 log 10 UI/ml de la charge virale, mais suivie d'une charge virale détectable après au moins 6 mois de traitement conforme.

Un échappement virologique peut également être observé ; il est défini par une augmentation confirmée de plus de 1 log 10 UI/ml de la charge virale par rapport au nadir (plus petite mesure observée au cours du traitement). Cet échappement virologique peut être précédé par une augmentation des transaminases.

L'échappement virologique est principalement dû à une résistance médicamenteuse par apparition de mutants de résistance. Cette résistance est caractérisée par une sélection de mutants du HBV présentant des substitutions dans leurs acides aminés, leur conférant une susceptibilité réduite aux analogues nucléotidiques administrés.

Prenant l'exemple de la Lamivudine, une étude démontre que les patients ayant une charge virale supérieure à 1000 copies/ml après 6 mois de traitement avaient 63.2% de risque de développer par la suite des mutants YMDD. [40]

Ces mutations conférant une résistance peuvent être confirmées par un test de génotypage.

7- Prévention de l'hépatite B

Le meilleur moyen de prévenir l'hépatite B et ses complications est l'immunisation active par la vaccination. Le premier vaccin contre l'hépatite B a été mis au point par le français Philippe Maupas (Centre hospitalier de Tours, France) avec une équipe sénégalaise. De plus, cette équipe franco-sénégalaise a démontré l'efficacité du vaccin suite à une étude réalisée sur des enfants de moins de 2 ans au Sénégal, vaccinés par 3 doses du vaccin à un mois d'intervalle [26]. Ainsi les vaccins contre l'hépatite B sont disponibles depuis 1982 et il a été prouvé que ces vaccins sont sûrs, hautement immunogènes et efficaces dans la prévention de l'hépatite aiguë et chronique.

Le vaccin contre l'hépatite B est constitué d'Ag HBs. Deux types de vaccins sont disponibles : le plus ancien (1981-1982) est préparé à partir d'Ag HBs purifié à partir de plasma de porteurs chroniques. Ces particules virales étant inactivées par une combinaison d'urée, de pepsine, de formaldéhyde, et de chaleur. Au milieu des années 80, un vaccin de « deuxième génération » a été commercialisé, obtenu par recombinaison génétique. C'est une protéine recombinante obtenue par insertion du gène du VHB codant l'Ag HBs, dans des cellules de levures de bière (cas du vaccin Engerix B®) ou dans des cellules ovariennes du hamster chinois (vaccin Genhevac B Pasteur®).

Ces vaccins sont aujourd'hui disponibles sous forme monovalente, mais aussi sous forme de combinaisons, tel que le vaccin hexavalent Infanrix Hexa® qui est un vaccin combiné diphtérique, tétanique, coquelucheux acellulaire, poliomyélitique, *Haemophilus influenzae* b, hépatite B. Les vaccins sont administrés par voie intramusculaire, dans la cuisse chez les nourrissons et dans le muscle deltoïde chez les adultes et les enfants. Les vaccins contre l'hépatite B sont administrés selon un schéma classique de trois doses (de type 0-1-6 mois),

mais ce schéma peut varier selon les pays. Ces trois doses produisent une réponse immunitaire avec des titres d'anticorps considérés comme protecteurs (supérieurs à 10mUI/ml) chez plus de 95 % des nourrissons sains, des enfants et des adolescents et chez plus de 90% des adultes sains. [41].

La vaccination contre le VHB permet l'acquisition d'une mémoire immunitaire solide assurant une protection immunitaire efficace, spécifique contre l'Ag HBs, et qui persiste malgré une diminution du titre des anticorps anti-HBs sous le seuil de 10 mUI/ml. [42].

Afin d'éliminer l'infection par le VHB, même dans les régions de faible endémie, une immunisation universelle est indispensable. C'est dans cette visée qu'en 1992, l'OMS a recommandé l'introduction du vaccin contre l'hépatite B, dans tous les programmes nationaux de vaccination, pour les nourrissons et adolescents, avant décembre 1997. [36]

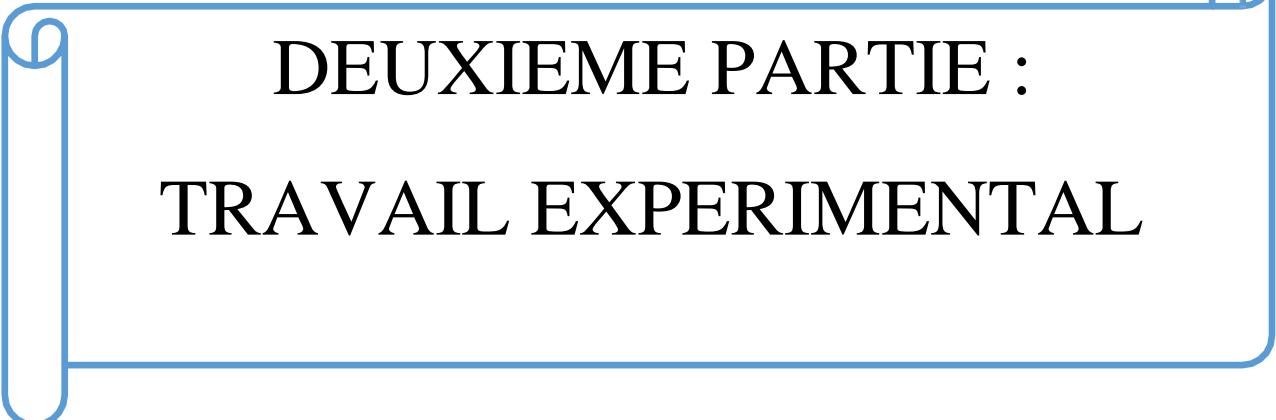
En 2011, 179 pays avaient inclus la vaccination contre l'hépatite B des nourrissons dans leurs programmes nationaux de vaccination.

Au Sénégal, le vaccin contre l'hépatite B a été introduit en 2005 dans le Programme Elargi de Vaccination. Le schéma classique est une vaccination à la 6^e, 10^e et 14^e semaine administré sous forme de vaccin pentavalent (Poliomyélite, diphtérie, tétanos, coqueluche et hépatite B).

A côté de l'immunisation active, une immunisation passive par des immunoglobulines anti-hépatite B (HBIg), préparées à partir de pool de plasma contenant des niveaux élevés d'anticorps anti-HBs, est également possible pour la prévention de l'infection après une exposition au virus. Elle permet une protection temporaire de 3 à 6 mois. Les HBIg doivent être administrées dans les 48 heures suivant l'exposition.

De plus, ces immunoglobulines sont utilisées pour l'immunisation des nouveau-nés de mère porteuse chronique de l'antigène HBs. Cette immunisation doit être

systématique chaque fois que la recherche, obligatoire de l'AgHBs chez la mère au sixième mois de grossesse, a été positive, ou que le résultat de l'examen n'est pas connu à l'accouchement. Ces nouveau-nés doivent être vaccinés dans les 12 heures suivant la naissance. [43]



DEUXIEME PARTIE :

TRAVAIL EXPERIMENTAL

1. Objectifs

L'objectif principal de ce travail a été d'étudier la prévalence des marqueurs du virus d'Hépatite B (*VHB*) chez les patients reçus au laboratoire de Bactériologie-Virologie du CHNU de FANN.

L'objectif spécifique était de :

- déterminer les marqueurs sérologiques de suivi des patients porteur du VHB

2. Type, cadre et période d'études

***Cadre d'étude**

Notre étude a été réalisée au laboratoire de bactériologie virologie du Centre Hospitalier National Universitaire (CHNU) de FANN situé dans le quartier de Fann Résidence, sur l'avenue Cheikh Anta Diop .Le Centre Hospitalier National Universitaire (CHNU) de Fann est un établissement public de santé de niveau III

***Type et période d'étude**

Il s'agissait d'une étude rétrospective descriptive couvrant la période allant de janvier à novembre 2020.

3. Matériels et méthode

***Matériel**

- Réfrigérateur/ Congélateur
- Gants
- Lunettes de protection
- Marqueurs
- Portoirs pour tubes de 5ml
- Sacs poubelles

- Bac à eau de javel
- Eau de javel
- Alcool ou solution antiseptique
- Gants en latex non talqués
- Micropipettes avec embouts à filtre (10µL ,100µL ,200µL)
- Centrifugeuse
- Tube à hémolyse

***Échantillonnage**

- Les prélèvements sanguins ont été réalisés chez les patients par ponction veineuse au niveau du pli du coude avec un garrot. Le sang a été recueilli sur tube sec. Après recueil, les échantillons ont été centrifugés et acheminés au laboratoire de bactériologie –virologie du CHNU de FANN où ils ont été manipulés directement dans les 4 heures, ou si l’analyse est différée le prélèvement sera Conservé entre 4 et 8 °C (5 à 7 jours)

***Méthode de dosage**

Le dosage des marqueurs du virus de l'hépatite B (VHB) a été réalisé avec l'automate Architect Abbott (voir figure 12)

***Principe de dosage**

Dosage en plusieurs étapes pour la détection des anticorps ou des antigènes dans le sérum humain utilisant la technologie immunologique de microparticules par chimiluminescence :

- 1- échantillon pré diluée et les microparticules paramagnétiques sont mises en présence de l'antigène ou l'anticorps dans sérum qui se lit aux microparticules
- 2- après lavage les antigènes ou les anticorps vont se lier à un conjugué recombinant marquée par l’Acredinium qui est ajouter

3- après un autre cycle de lavage des solutions d'activation sont ajouté au mélange réactionnel

4- la réaction chimiluminescence résultante est mesurée par URL

Il existe une relation directe entre la quantité d'antigène ou d'anticorps présent dans l'échantillon et le nombre d'URL détectés par le système optique de l'appareil la présence ou l'absence d'antigène ou d'anticorps dans l'échantillon est déterminée en comparant le signal chimiluminescent de la réaction au signal de valeur seuil déterminé à l'aide d'une courbe de calibration.

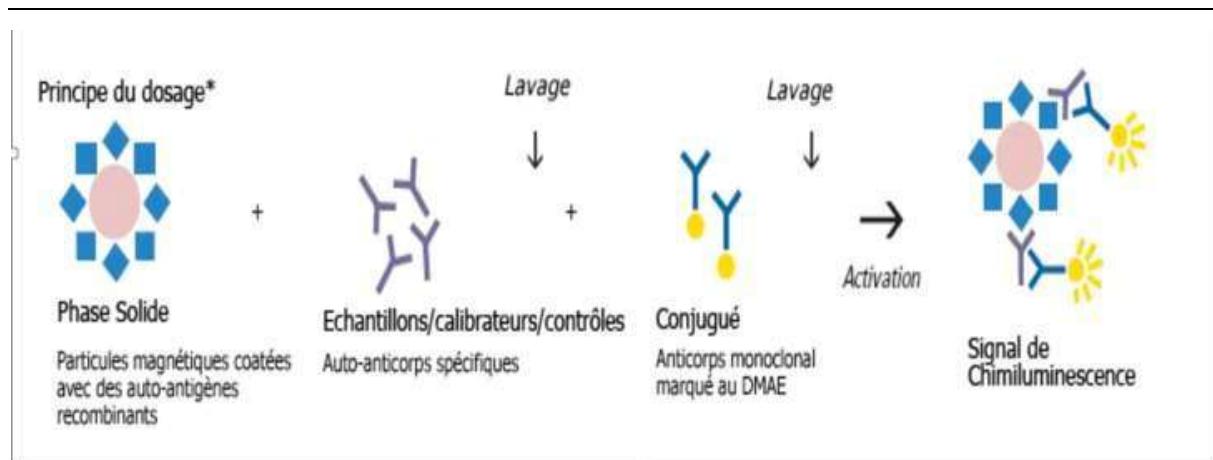


Figure 11: Schéma du principe de dosage par chimiluminescence

*Résultats :

Si le signal chimiluminescence de l'échantillon est supérieur ou égal au signal de la valeur seuil ; l'échantillon est réactif (positif).

Si le signal chimiluminescence de l'échantillon est inférieur au signal de la valeur seuil ; l'échantillon non réactif (négatif).



Figure 12: Présentation de l'automate Architect i1000 Abbott

***Marqueurs étudiés**

Les marqueurs inclus dans notre étude étaient : l’antigène HBs (Ag HBs) ; l’anticorps anti HBs (Ac anti HBs) ; l’antigène HBe (Ag HBe) ; l’anticorps anti HBe (Ac anti HBe) ; les anticorps anti HBC (Ac anti HBC)

***Collecte des données**

La collecte a été réalisée à partir des registres du Laboratoire de Bactériologie-Virologie puis saisies et exploitées avec le logiciel EPI-INFO version 3.5.4.

L’âge, le sexe, les antécédents des patients et le service de provenance ont été aussi collectés.

4) Résultats :

1) Caractéristiques de la population d’étude :

L’étude qui a été menée concerne 1590 patients reçus au laboratoire de bactériologie-virologie de CHNU de FANN entre Janvier et novembre 2020 pour la recherche des marqueurs du virus de l’hépatite B. L’âge moyen était de 41,90 ans avec des extrêmes de 2 ans et 100 ans.

Les femmes représentaient 55,98% soit un sex-ratio (H/F) de 1,27.

La tranche d'âge [20-40 ans] a été la plus représentative de notre population d'études avec un pourcentage de 47,9% suivie de la tranche d'âge 40-60 ans avec un pourcentage de 23,9% (tableau III)

Tableau III: Répartition de la population d'études selon les sexes, la classe d'âge et le statut

Caractéristiques	Effectifs	%
Sexe		
Homme	666	55,98
Femme	847	44,02
Total	1513	
Classe d'âge (ans)		
	82	7,5
[20-40[518	47,9
[40-60[259	23,9
[60-80[211	19,5
>80	11	1,01
Total	1081	

2/ Répartition de la population d'étude selon le statut (externe et hospitalisé)

Sur les 1590 patients seul 89 patients ont été reçus à titre interne ou hospitalisé et 1501 patients à titre externes.

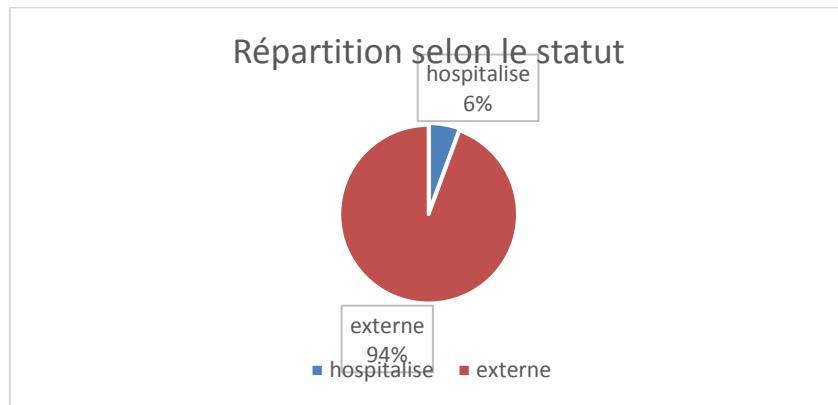


Figure 13: Répartition de la population d'étude selon le statut (externe et hospitalisé)

3/Répartition de la population d'études selon les services de provenance :

Les patients reçus à titre interne provenaient essentiellement du service des Maladies infectieuses suivi du service de Pneumologie, et du service de Neurologie ... (figure 14)

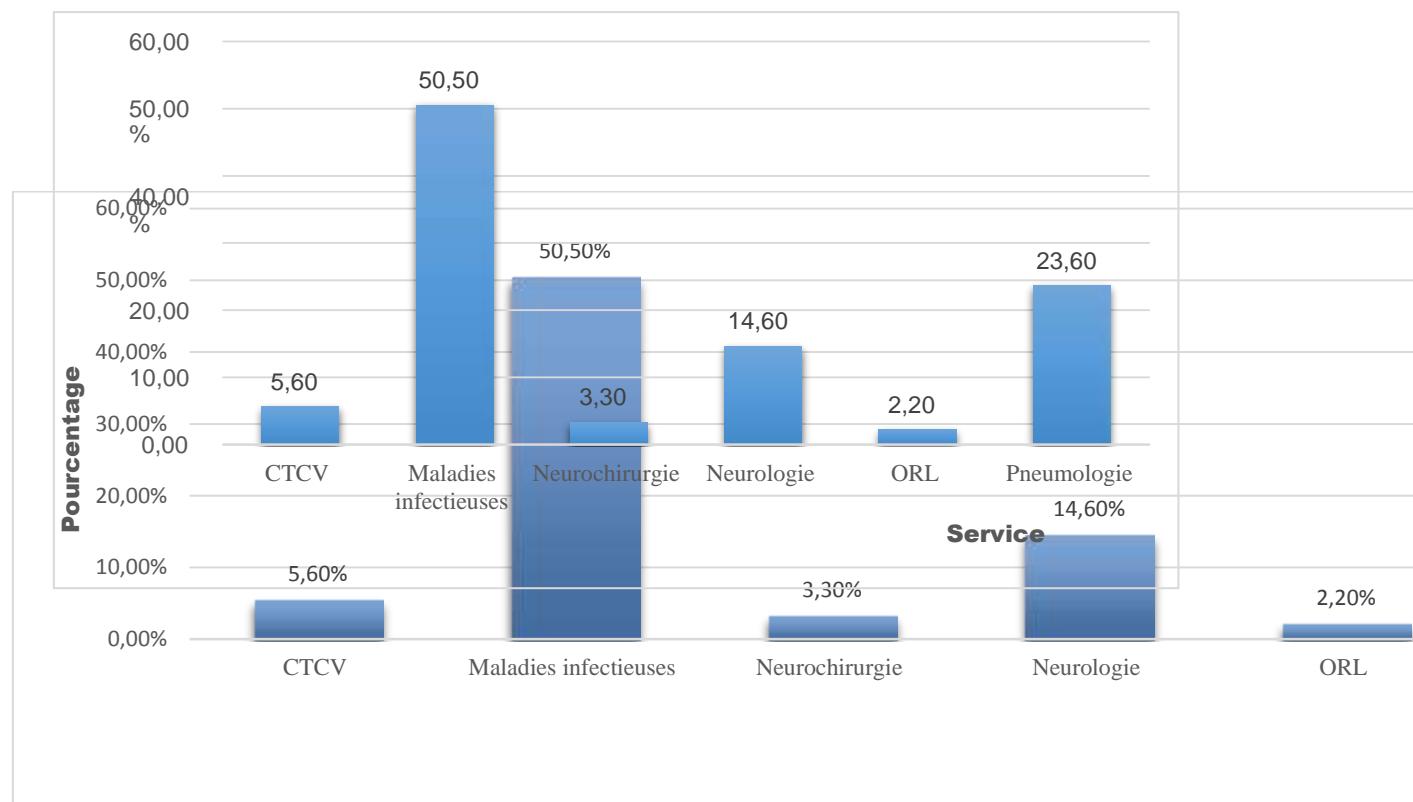


Figure 13: Répartition de la population d'étude selon les services de provenance

4/Répartition des patients selon les marqueurs sérologiques du VHB :

Tableau IIII: Répartition de la population d'études selon les marqueurs :

Caractéristiques	Effectifs	%
Ag HBs		
Positif	158	11,1
Négatif	1190	88,9
Total	1338	
Ac antiHBs		
Titre < 10 UI/l	91	40,08
Titre >10 UI/l	136	59,92
Total	227	
Ag HBe		
Positif	13	9,15
Négatif	129	90,8
Total	142	
Ac antiHBe		
Positif	72	66,1
Négatif	37	33,9
Total	109	
Ac antiHBc		
Positif	91	68,5
Négatif	42	31,5
Total	133	

- La prévalence des patients porteurs de l'antigène HBs était de 11,1%
- ceux ayant un Ac antiHBs avec titre < 10 UI/l représentaient 40,08 %
- ceux ayant un Ac antiHBs avec Titre >10 UI/l représentaient 59,92%
- ceux ayant un Ag HBe + représentaient 9,15%,
- ceux ayant Ac anti HBe + 66,1%

-Les patients avec Ac anti HBc + représentaient 68,5%

-59,92 % des patients avaient un titre d'anticorps anti-HBs supérieur au seuil de protection (supérieur ou égal à 10 UI/L)

Séroprévalence selon le Sexe

La séroprévalence est plus élevée chez les femmes que les hommes avec un pourcentage de 49.37% chez les hommes et 50.63% chez les femmes soit au total 79 hommes pour 81 femmes.

SEXÉ	EFFECTIF	POURCENTAGE
MASCULIN	79	49,37
FEMININ	81	50,63
TOTAL	160	

Tableau V: Séroprévalence selon le Sexe

5) COMMENTAIRE :

L'infection par le VHB est un problème de santé publique dans un pays à ressources limitées comme le Sénégal du fait de sa fréquence mais aussi de sa létalité élevée liée aux complications graves qu'elle entraîne notamment la cirrhose et le cancer primitif du foie.

Au Sénégal, 85 % de la population générale ont été en contact avec le virus de l'hépatite B et environ 11 % sont porteurs chroniques de ce virus

Notre étude avait pour objectif d'évaluer la prévalence du VHB chez des patients reçus au CHNU de FANN. Au total, 1590 personnes ont été incluses dans notre étude entre janvier et novembre 2020.

Nous avons effectué une étude rétrospective à visée descriptive. La technique d'analyse utilisée dans notre étude qui est une technique immunologique de microparticules CMIA par chimiluminescence qui a donné la preuve de son efficacité en parallèle avec la technique ELISA dans de nombreuses études [45] Notre population d'étude était composée de 44,02 % de femmes et de 55,98 % d'hommes. Par contre une population d'étude majoritairement féminine est retrouvée dans une étude hospitalière béninoise en 2016 qui rapporte 59,68 % de femmes et 40,30 % d'hommes [44] ainsi que dans une étude malienne en 2014 [1].

Notre population d'étude présente une moyenne d'âge de 41,90 ans différente de celle retrouvée par Bessimbaye et coll. au Tchad avec une population d'études hospitalière chez qui l'âge moyen était de 31,3 ans et 65,1% étaient des femmes. [46].

La tranches d'âge la plus représentée dans notre étude était celle de 20 à 40 ans avec un taux de 47,9 % qui est comparable à celle de Traoré et coll. [12] qui retrouve une forte prévalence dans la tranche d'âge de 25–34 ans avec un taux de 29,7 %.

Seuls 89 patients hospitalisés ont été reçus pour la recherche des marqueurs sérologiques de l'Hépatite B ce qui représente 5,5 %.sur le nombre total de patients recrutés.

Ces patients hospitalisés proviennent majoritairement du service des maladies infectieuses (50,50%) suivi du service de pneumologie (23,60%).

Dans une étude réalisée par SOW et Coll. [53], une prévalence élevée de l'antigène HBs a été retrouvée en odontostomatologie où l'on compte 29,05 % de porteurs mais aussi dans les services de médecine et les laboratoires avec respectivement des taux de 18,55 % et 6,12 %. Les services de chirurgie comptent seulement 11 % de porteurs de l'antigène HBs. [53]

La majorité de nos patients recrutés dans notre étude étaient suivis à titre externe soit 1501 patients ce qui représente un taux de 94,5% sur le nombre total de patients recrutés.

Nous avons retrouvé une séroprévalence du VHB de 11,1% dans une population de 1590 personnes tout sexe confondu reçu au laboratoire de bactériologie - virologie du CHNU de FANN .Cette prévalence place nos patients dans un groupe de forte prévalence selon la classification de l'OMS. Elle est égale à celle retrouvée dans la plupart des populations d'intérêt au Sénégal comme chez les femmes enceintes où elle varie entre 11,57 % et 12 %. Elle est cependant légèrement inférieure à celle d'une étude en Côte d'Ivoire qui retrouve 15,6 % chez des patients reçus à la gendarmerie nationale ivoirienne [7].

Dans notre étude le nombre de femmes porteuses de l'antigène HBs est légèrement supérieur à celui des hommes soit 81 femmes [50.63%] et 79 hommes [49.37%].

Dans la population générale, la séroprévalence est plus élevée chez les hommes que chez les femmes [47]. Cette prédominance masculine a été notée par Ott et coll lors d'une revue épidémiologique à l'échelle mondiale sur l'hépatite B [47]. Elle a été aussi retrouvée par Lo et coll chez des personnes vivant avec le VIH (PVVIH) [78]. Cette prédominance masculine serait liée en partie à un facteur génétique protégeant les femmes contre l'infection au virus de l'hépatite B. Nous avons recherché des marqueurs de chronicité chez les sujets positifs à l'antigène HBs notamment l'antigène HBe qui est un marqueur de réPLICATION virale active et les anticorps anti HBe.

Au total, 90,8 % des sujets se sont révélés antigène HBe négatif et 66,1% ont des anticorps anti HBe. Ces derniers sont des marqueurs d'arrêt de la réPLICATION virale. Nos résultats sont différents de ceux de Lo et coll. [48] qui ont retrouvé chez les personnes vivant avec le VIH (PVVIH) porteurs de l'antigène HBs une séroprévalence de 24,4 % pour l'antigène HBe et de 69,2 % pour les anticorps anti HBe

Par rapport aux anticorps anti HBs, nous avons pu répartir notre population d'étude en deux catégories : ceux qui ont un titre en anticorps anti HBs inférieur à 10mUI/ml et ceux qui ont un titre en anticorps anti HBs \geq 10mUI/ml. Le seuil de 10mUI/ml en anticorps anti HBs est considéré comme étant le seuil protecteur [107]

Dans notre étude nous avons pu trouver sur un total de 227 demandes de titrage d'Ac anti HBs, 91 patients soit 40,08% ont un titre inférieur à 10 UI/l et 136 patients un titre supérieur à 10 UI/l soit 59,92%

Ceux ayant un titre en anticorps anti HBs insuffisant ont besoin d'être vaccinés d'après les recommandations de l'O.M.S [50].

S'agissant des sujets ayant un taux protecteur d'anticorps anti HBs (supérieur à 10 UI/l), la recherche des anticorps anti HCb de type IgG nous aurait permis de

distinguer les sujets qui ont développé une immunité suite à une résolution de l'infection.

Notre étude s'est intéressée à une population mixte masculine et féminine tous les facteurs qui peuvent porter confusion ont été pris en compte. Comme toute étude rétrospective, elle présente des limites parmi lesquelles l'impossibilité d'établir des relations causales comme les antécédent médicales ; les facteurs de risques et prédispositions de chaque patient. .

De même, comme dans la plupart des études, nous n'avons fait que le dosage de l'antigène HBs (Ag HBs) ; l'anticorps anti HBs (Ac anti HBs) ; l'antigène HBe (Ag HBe) ; l'anticorps anti HBe (Ac anti HBe) ; les anticorps anti HBc totaux (Ac anti HBc). Le dosage des anticorps anti-HBc de type IgM et IgG nous aurait permis de faire la distinction entre les infectés récents et les porteurs chroniques.

La recherche de l'ADN virale de l'hépatite B (charge virale) pourrait nous permettre de trouver une prévalence plus élevée en mettant en évidence les cas d'hépatite B occulte [51].

Conclusion :

L’Hépatite B constitue un problème majeur de santé publique et malgré les efforts de dépistage et de diagnostic fournis, la prévention par la vaccination reste toujours un problème à cause de la faiblesse de la couverture vaccinale dans les zones de plus forte endémicité. C’est pourquoi, pour une meilleure prise en charge de cette pathologie il faudra que :

- Les patients atteints de VHB bénéficient d’un dosage trimestriel de l’ALAT, d’un dosage semestriel de la virémie et d’un suivi annuel par des marqueurs non invasifs de fibrose.
- Les femmes enceintes ayant des niveaux élevés d’ADN du VHB peuvent être admissibles à une prophylaxie antivirale pendant la grossesse afin de prévenir l’infection périnatale par le VHB et de protéger leurs nourrissons contre la maladie.

Recommandations :

Au terme de notre étude, nous formulons les recommandations suivantes :

Sensibiliser les populations sur les modes de transmission de la maladie

Renforcer le PEV et tendre vers une couverture complète pour l'élimination à moyen ou long terme du VHB.

Renforcer le dépistage chez les femmes enceintes

- Dépister les personnes à risque (personnel médical et paramédical, les femmes enceintes) de manière systématique.

- Rendre disponible la charge virale pour un meilleur suivi virologique et la détection des patients ayant une hépatite B occulte.

- De sensibiliser à cette problématique, de promouvoir des partenariats et de mobiliser des ressources ;

- De formuler des politiques reposant sur des bases factuelles et d'obtenir des données pour guider l'action ;

- D'améliorer l'équité en santé dans le cadre de la lutte contre l'hépatite ;

→ De renforcer les services de dépistage, de prise en charge et de traitement

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Koike, K.; K. Moriya; S. Iino; H. Yotsuyanagi; Y. Endo; T. Miyamura and K. Kurokawa. 1994. "High-Level Expression of Hepatitis B Virus Hbx Gene and Hepatocarcinogenesis in Transgenic Mice." *Hepatology*, 19(4), 810-9.
2. Perz, J. F.; G. L. Armstrong; L. A. Farrington; Y. J. Hutin and B. P. Bell. 2006. "The Contributions of Hepatitis B Virus and Hepatitis C Virus Infections to Cirrhosis and Primary Liver Cancer Worldwide." *J Hepatol*, 45(4), 529-38.
3. Benvegnù, L.; G. Fattovich; F. Noventa; F. Tremolada; L. Chemello; A. Cecchetto and A. Alberti. 1994. "Concurrent Hepatitis B and C Virus Infection and Risk of Hepatocellular Carcinoma in Cirrhosis. A Prospective Study." *Cancer*, 74(9), 2442-8.
- 4..Blumberg, B. S.; A. I. Sutnick and W. T. London. 1968. "Hepatitis and Leukemia: Their Relation to Australia Antigen." *Bull N Y Acad Med*, 44(12), 1566-86.
5. Dane, D. S.; C. H. Cameron and M. Briggs. 1970. "Virus-Like Particles in Serum of Patients with Australia-Antigen-Associated Hepatitis." *Lancet*, 1(7649), 695-8.
6. Patient, R. 2008. "Morphogenèse Du Virus De L'hépatite B " *Virologie*, 12(6), 453-64.
7. Gust, I. D.; C. J. Burrell; A. G. Coulepis; W. S. Robinson and A. J. Zuckerman. 1986. "Taxonomic Classification of Human Hepatitis B Virus." *Intervirology*, 25(1), 14-29.
- 8..Dubois, F. 1998. "Biologie Du Virus De L'hb." *Médecine thérapeutique*, Volume 4(1), 5-12.

- 9.Lee, G. H.; S. Wasser and S. G. Lim. 2008. "Hepatitis B Pregenomic Rna Splicing--the Products, the Regulatory Mechanisms and Its Biological Significance." *Virus Res*, 136(1-2), 1-7.**
- 10. S. Chatterjee; V. Veer and R. Chakravarty. 2012. "Molecular Biology of the Hepatitis B Virus for Clinicians." *Journal of Clinical and Experimental Hepatology*, 1-13.**
- 56.Kramvis, A. and M. C. Kew. 2007. "Epidemiology of Hepatitis B Virus in Africa, Its Genotypes and Clinical Associations of Genotypes." *Hepatol Res*, 37(s1), S9-S19.**
- 11.Bahri, O. 2008. "Épidémiologie De L'hépatite Virale B En Tunisie " *Med Mal Infect*, 38(S2), 192.**
- 12.Dao, S.; F. Bougoudogo; S. Traoré; K. Coulibaly; S. Diallo and A.A Oumar. 2009. "Portage De L'aghbs Au Mali: Bilan De Dix Ans De Dépistage À L'institut National**
- 14.Mansour, W.; F. Z. Malick; A. Sidiya; E. Ishagh; M. A. Chekaraou; P. Veillon; A. Ducancelle; S. Brichler; F. Le Gal ; B. Lo, et al. 2012. "Prevalence, Risk Factors, and Molecular Epidemiology of Hepatitis B and Hepatitis Delta Virus in Pregnant Women and in Patients in Mauritania." *J Med Virol*, 84(8), 1186-98.**
- 15.Iloeje, U. H.; H. I. Yang; J. Su; C. L. Jen; S. L. You; C. J. Chen; Elevation Risk Evaluation of Viral Load and H. B. V. Study Group Associated Liver Disease/Cancer-In. 2006. "Predicting Cirrhosis Risk Based on the Level of Circulating Hepatitis B Viral Load." *Gastroenterology*, 130(3), 678-86.**
- 16.Payen, J. L. and M. Rongieres. 2002. "[History of Hepatitis.2. Identification of Epidemic Hepatitis]." *Rev Prat*, 52(20), 2213-7.**

17. Huang, J. and T. J. Liang. 1993. "A Novel Hepatitis B Virus (Hbv) Genetic Element with Rev Response Element-Like Properties That Is Essential for Expression of Hbv Gene Products." *Mol Cell Biol*, 13(12), 7476-86.
18. Elgouhari, H. M.; T. I. Abu-Rajab Tamimi and W. D. Carey. 2008. "Hepatitis B Virus Infection: Cleve Clin J Med, 75(12), 881-9.
19. -Fattovich, G. 2003. "Natural History of Hepatitis B." *J Hepatol*, 39 Suppl 1, S50- 8.Fattovich, G.; S. Boscaro; F. Noventa; E. Pornaro; D. Stenico; A. Alberti; A. Ruol and G. Realdi. 1987. "Influence of Hepatitis Delta Virus Infection on Progression to Cirrhosis in Chronic Hepatitis Type B." *J Infect Dis*, 155(5), 931-5.
20. Stanislas, P. 2007. "Épidémiologie Et Histoire Naturelle De L'infection Par Le Virus De L'hépatite B." *Hépato-Gastro*, 14.
21. Mauss, S.; T. Berg; J. Rockstroh; C. Sarrazin and H. Wedemeyer. 2012. "Hepatology-a Clinical Textbook," Flying Publisher 546.
22. Liaw, Y. F. and C. M. Chu. 2009. "Hepatitis B Virus Infection." *Lancet*, 373(9663), 582-92.
23. -Yuen, M. F.; H. J. Yuan; D. K. Wong; J. C. Yuen; W. M. Wong; A. O. Chan; B. C. Wong; K. C. Lai and C. L. Lai. 2005. "Prognostic Determinants for Chronic Hepatitis B in Asians: Therapeutic Implications." *Gut*, 54(11), 1610-4.
24. Fattovich, G.; L. Brollo; G. Giustina; F. Noventa; P. Pontisso; A. Alberti; G. Realdi and A. Ruol. 1991."Natural History and Prognostic Factors for Chronic Hepatitis Type B." *Gut*, 32(3), 294-8.
25. Hoofnagle, J. H. 1981. "Serologic Markers of Hepatitis B Virus Infection." *Annu Rev Med*, 32, 1-11.

26. Komatsu, H.; A. Inui; T. Sogo; A. Tateno; R. Shimokawa and T. Fujisawa. 2012. "Tears from Children with Chronic Hepatitis B Virus (Hbv)

Infection Are Infectious Vehicles of Hbv Transmission: Experimental Transmission of Hbv by Tears, Using Mice with Chimeric Human Livers." J Infect Dis, 206(4), 478-85.

27. Jack, A. D.; A. J. Hall; N. Maine; M. Mendy and H. C. Whittle. 1999. "What Level of Hepatitis B Antibody Is Protective?" *J Infect Dis*, 179(2), 489- 92.
- .28. Mast, E. E.; H. S. Margolis; A. E. Fiore; E. W. Brink; S. T. Goldstein; S. A. Wang; L. A. Moyer; B. P. Bell; M. J. Alter and Practices Advisory Committee on Immunization. 2005. "A Comprehensive Immunization Strategy to Eliminate Transmission of Hepatitis B Virus Infection in the United States: Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (Acip) Part 1: Immunization of Infants, Children, and Adolescents." *MMWR Recomm Rep*, 54(RR-16), 1-31.
29. Kim, B. K.; P. A. Revill and S. H. Ahn. 2011. "Hbv Genotypes: Relevance to Natural History, Pathogenesis and Treatment of Chronic Hepatitis B." *Antivir Ther*, 16(8), 1169-86.
30. Mahoney, F. J. 1999. "Update on Diagnosis, Management, and Prevention of Hepatitis B Virus Infection." *Clin Microbiol Rev*, 12(2), 351-66.
31. Bekondi, C. 2008. "Aspects Cliniques Et Épidémiologiques Des Infections À Virus De L'hépatite B En République Centrafricaine," Ecole doctorale "Biologie, Santé, environnement). Université Henri Poincaré-Nancy 1, 157.
32. Pawlotsky, J. M. 2002. "Molecular Diagnosis of Viral Hepatitis." *Gastroenterology*, 122(6), 1554-68.
33. Castera, L. 2004. "Tests De Quantification Virale Pour Le Virus De L'Hépatite B " *Hépato-Gastro*, 11(2), 99-103.
34. Poitras, E. and A. Houde. 2002. "La PCR En Temps Réel : Principes Et Applications." *Reviews in Biology and Biotechnology*. By The Moroccan Society of Biology in Canada, 2(2), 2-11.
35. Séroprevalence of HBs Ag and of anti-HCV antibodies among HIV infected people in N'Djamena, Chad N.Bessimbaye, A. M. Moussa,D. Mbanga, A. Tidjani,S. O. Mahamat, M. Nahor Ngawara, G. Ngarnayal,H. Y. Fissou, L. Sangare, G. Ndoutamia &N. Barro Virus Variants Is Correlated with Fulminant Hepatitis in Infants." *J Med Virol*, 47(4), 336-41.

- 36.** Hézode, C. 2011. "Actualités Hépatite Chronique B." Hôpital Henri Mondor -
Créteil,http://www.infectiologie.com/site/medias/enseignement/seminaires_desc/2011-janvier/VHB-Desc-janv2011-hezode.pdf
- 37.** EASL. 2012. "Easl Clinical Practice Guidelines: Management of Chronic Hepatitis B Virus Infection." *J Hepatol*, 57(1), 167-85.
- 38.**https://www.researchgate.net/publication/308694897_Prevalence_de_l'antigene_HBs_a_l'Hopital_de_Zone_d'Abomey_Calavi_So-Ava_au_Benin_de_2009_a_2014
- 39.** Perrillo, R. P.; E. R. Schiff; G. L. Davis; H. C. Bodenheimer, Jr.; K. Lindsay; J. Payne; J. L. Dienstag; C. O'Brien; C. Tamburro; I. M. Jacobson, et al. 1990. "A Randomized, Controlled Trial of Interferon Alfa-2b Alone and after Prednisone Withdrawal for the Treatment of Chronic Hepatitis B. The Hepatitis Interventional Therapy Group." *N Engl J Med*, 323(5), 295-301.
- 40.** -Yuen, M. F.; E. Sablon; C. K. Hui; H. J. Yuan; H. Decraemer and C. L. Lai. 2001. "Factors Associated with Hepatitis B Virus DNA Breakthrough in Patients Receiving Prolonged Lamivudine Therapy." *Hepatology*, 34(4 Pt 1), 785-91.
- .41.** Leuridan, E. and P. Van Damme. 2011. "Hepatitis B and the Need for a Booster Dose." *Clin Infect Dis*, 53(1), 68-75.
- 42.** West, D. J. and G. B. Calandra. 1996. "Vaccine Induced Immunologic Memory for Hepatitis B Surface Antigen: Implications for Policy on Booster Vaccination." *Vaccine*, 14(11), 1019-27.
- 43.** Hézode, C. 2011. "Actualités Hépatite Chronique B." Hôpital Henri Mondor -
Créteil,http://www.infectiologie.com/site/medias/enseignement/seminaires_desc/2011-janvier/VHB-Desc-janv2011-hezode.pdf
- 43.** 47-de Franchis, R.; A. Hadengue; G. Lau; D. Lavanchy; A. Lok; N. McIntyre; A. Mele; G. Paumgartner; A. Pietrangelo; J. Rodes, et al. 2003. "Easl International Consensus Conference on Hepatitis B. 13-14 September, 2002 Geneva, Switzerland. Consensus Statement (Long Version)." *J Hepatol*, 39 Suppl 1, S3-25.
- 44..** Robinson, W. S.; D. A. Clayton and R. L. Greenman. 1974. "DNA of a Human Hepatitis B Virus Candidate." *J Virol*, 14(2), 384-91.

45. https://www.sfm-microbiologie.org/wp-content/uploads/2019/02/VIRUS_HEPATITE-B.pdf

46. <http://ajol.info/index.php/ijbcs> Int. J. Biol. Chem. Sci. 7(2): 468-478, April 2013

7.https://www.researchgate.net/publication/234029526_Prevalence_of_HBs_antigen_carriage_in_a_population_of_national_Gendarmerie_recruits_in_Ivory_Coast_in_2008

47. Global epidemiology of hepatitis B virus infection: new estimates of age- specific HBsAg seroprevalence and endemicity J J Ott 1, G A Stevens, J Groeger, S T Wiersma

48. Lo G, Diawara PS, Diouf NN, Faye B, Seck MC, Sow K, Sarré SM, Ndiaye HD, Touré Kane NC, Mboup S. Prévalence de l'antigène de surface du virus de l'hépatite B (Ag HBs) chez les femmes enceintes au laboratoire de l'hôpital militaire de Ouakam (HMO), Dakar. Méd Afr Noire. 2012 ; 59(5):241– 244.

49..<https://www.infectiologie.com/UserFiles/File/medias/JNI/JNI09/References/Référents2009-Vacc-VHB-Atelier.pdf>

50. Mahoney, F. J. 1999. "Update on Diagnosis, Management, and Prevention of Hepatitis B Virus Infection." Clin Microbiol Rev, 12(2), 351-66.

**51. Hépatite B occulte : un diagnostic à ne pas méconnaître
SafaeElkochri1Mohamed
RidaTagajdid2RachidAbi1HichamElannaz1IdrissLahlou
Amine**

52. Kramvis, A. and M. C. Kew. 2007. "Epidemiology of Hepatitis B Virus in Africa, Its Genotypes and Clinical Associations of Genotypes." Hepatol Res, 37(s1), S9-S19.

53. <https://bibnum.ucad.sn/viewer.php?c=thm&d=M-37666>

54. Macoura Gadji ¹, Youssou Bamar Guéye, Aissata Ba, Alioune Badara Senghor, Rose Seck, Blaise Felix Faye, Moussa Seck, Diarietou Sy, Tandakha Ndiaye Diéye, Saliou Diop(UCAD),(CNTS), Dakar, Sénégal

RESUME : Prévalence des marqueurs du VHB (Virus de l'Hépatite B) chez les patients reçus au laboratoire de Bactériologie et de Virologie du CHNU de FANN

1. Introduction

L'hépatite B est une infection du foie largement répandue dans le monde et est causée par le Virus de l'Hépatite B (VHB). Cette pathologie constitue un réel problème de santé publique avec 2 milliards de personnes infectées par le virus dans le monde. En Afrique, 65 millions de personnes sont des porteurs chroniques du VHB et la plus forte endémicité est retrouvée en Afrique Subsaharienne Au Sénégal, l'infection par le VHB est fortement endémique, avec 11% de porteurs chroniques dans la population générale L'objectif principal de ce travail a été d'étudier la prévalence des marqueurs sérologiques du Virus de l'Hépatite B (VHB)*chez les patients* reçus au laboratoire de bactériologie-virologie du CHNU de Fann.

2. Matériel et méthode

Il s'agissait d'une étude rétrospective descriptive couvrant la période de janvier à novembre 2020 portant sur la prévalence des marqueurs sérologiques du virus de l'hépatite B . Le dosage de ces marqueurs a été réalisé avec l'automate Architect Abbott i1000 en utilisant la technologie immunologique de microparticules par chimiluminescence Les données ont été collectées puis exploitées grâce au logiciel Epi Info dans sa version 3.5.4. Un masque de saisie a été élaboré à cet effet.

3. Résultats :

Notre population d'étude était constituée de 1590 sujets. L'âge moyen était de 41,90 ans +/- 17,42. Les femmes représentaient 55,98% soit un sex-ratio (H/F) de 1,27

La séroprévalence est plus élevée chez les femmes que les hommes avec un pourcentage de 49.37% chez les hommes et 50.63% chez les femmes.

-La prévalence des patients porteurs de l'antigène HBs était de 11,1% tout âge confondu

-ceux ayant un Ag HBe + représentaient 9,15%,

- ceux ayant Ac anti HBe + 66,1%

-Les patients avec Ac anti HBc + représentaient 68,5%

-59,92 % des patients avaient un titre d'anticorps anti-HBs supérieur au seuil de protection (supérieur à 10 UI/L)

4. conclusion :

L'Hépatite B constitue toujours un problème majeur de santé publique malgré les efforts de dépistage et de diagnostic fournis , la prévention par la vaccination reste toujours un problème du fait de la faiblesse de la couverture vaccinale dans les zones de plus forte endémicité cependant pour une meilleure prise en charge de cette pathologie il faudra que le dépistage du Virus de l'Hépatite B soit fait pour toutes les personnes à risque (personnel médical et paramédical, les femmes enceintes) de manière systématique.

Mots clés : Virus de l'hépatite B ; Marqueurs sérologiques ; CHNU Fann

