

BURKINA FASO

Unité-Progrès-Justice

UNIVERSITE POLYTECHNIQUE DE BOBO-DIOULASSO



Profil sérologique de l'hépatite B de l'enfant à Bobo-Dioulasso

MEMOIRE

Présenté et soutenu publiquement le **21 juillet 2015** pour l'obtention du

MASTER EN BIOLOGIE APPLIQUEE ET MODELISATION DES SYSTEMES
BIOLOGIQUES (BAMSB)

Par

Sanata SESSOUMA

Président du Jury : Pr Georges Anicet OUEDRAOGO

Membres : Pr Jean Bosco OUEDRAOGO

Directeur de mémoire : Pr Boubacar NACRO

Co-directrices : Dr Diane Célestine VALEA

Dr Makoura BARRO

BURKINA FASO

Unité-Progrès-Justice

UNIVERSITE POLYTECHNIQUE DE BOBO-DIOULASSO



Profil sérologique de l'hépatite B de l'enfant
à Bobo-Dioulasso

MEMOIRE

Présenté et soutenu publiquement le **21 juillet 2015** pour l'obtention du

MASTER EN BIOLOGIE APPLIQUEE ET MODELISATION DES SYSTEMES
BIOLOGIQUES (BAMSB)

Par

Sanata SESSOUMA

Président du Jury : Pr Georges Anicet OUEDRAOGO

Membres : Pr Jean Bosco OUEDRAOGO

Directeur de mémoire : Pr Boubacar NACRO

Co-directrices : Dr Diane Célestine VALEA

Dr Makoura BARRO

Dédicaces remerciements

Ce travail a été réalisé dans le cadre d'un projet de recherche financé par l'Agence Nationale de Recherche sur le SIDA et les Hépatites virales (ANRS) sous le code ANRS 12191 - COPEHEBO

Dédicaces

Je dédie ce travail :

A mon père

A mes mamans, frères et sœurs.

A toute ma famille

A mon ami de cœur

Remerciements

Tout d'abord, je rends grâce à Dieu pour tout, car tout ce qu'il fait est sans faille et tout ce qu'il permet est bon.

Au Professeur Boubacar NACRO : Directeur de mémoire

Chef du département de pédiatrie du Centre Hospitalier Universitaire Souro Sanou de Bobo-Dioulasso, investigateur principal du projet COPEHEBO.

Professeur, merci de m'avoir fait confiance. Grâce à vous ce travail a été possible

Au Dr Philippe MSELLATI, MD, PhD en épidémiologie, Directeur de recherche.

Egalement investigateur principal du projet COPEHEBO, merci pour votre intervention dans la réalisation de ce travail.

Au Dr Diane VALEA : Encadreur et co-directrice du mémoire,

Docteur ès science en Bactériologie- Virologie et hygiène,

Chargée de recherche à l'Institut de Recherche en Sciences de la Santé.

Vous m'avez offert la chance de travailler dans le domaine qui m'intéresse et permise de réaliser ce rêve en m'accueillant dans le laboratoire de Virologie du centre MURAZ où vous étiez responsable du volet biologique du projet COPEHEBO. Vous avez accepté la

codirection de ce travail de mémoire malgré vos multiples obligations professionnelles. Je vous en serai toujours reconnaissante.

Aux membres du jury :

A notre maître et président du jury, le **Professeur Georges Anicet OUEDRAOGO**, nous sommes très marquées de l'honneur que vous nous faites en acceptant de présider ce jury nonobstant vos multiples sollicitations. Nous vous prions d'accepter nos sentiments de gratitude et nos hommages.

A notre maître et juge, le **Professeur Jean-Bosco OUEDRAOGO**, vous nous faites un grand honneur en acceptant de juger ce travail malgré vos multiples occupations. Recevez ici nos sincères reconnaissances et notre considération.

A notre Directeur de mémoire, le **Professeur Boubakar NACRO**, vous nous avez fait un grand privilège en acceptant de diriger ce travail malgré vos multiples occupations. Vos qualités pédagogiques et votre rigueur dans le travail resteront pour nous source d'inspiration.

A tous ceux, qui sont intervenus d'une quelconque manière à la réalisation de ce travail.

Au Dr Ali DRABO,

Sans vous ce travail n'aurait jamais vu le jour. Vous m'avez fait confiance et vous avez cru en moi. Grace à vous, j'ai eu l'occasion d'effectuer ce travail aux cotés de Dr Célestine VALEA. Recevez là toute ma gratitude et mon respect.

Au Dr Makoura BARRO

Tous mes remerciements pour le temps que vous nous avez accordé tout le long de ce travail, et ce, malgré votre emploi du temps chargé.

Je remercie Dr François ROUET, Dr Dramane KANIA, Dr Sylvie ZIDA, Dr Soumeya OUANGRAOUA, Dr Aline Raïssa OUOBA, Thérèse KAGONE, Alidou ZANGO, Mahamadi OUEDRAOGO et toute l'équipe du laboratoire virologique du Centre MURAZ. Sachez que j'ai beaucoup appris à vos côtés.

Je remercie toute l'équipe du service de mycobactériologie du Centre MURAZ où j'ai effectué un stage de trois mois : KABORE Antoinette, NOUCTARA Moumini et OUEDRAOGO Oumarou.

Merci au Dr Ibrahim Ouattara, au Dr Abdoul Salam OUEDRAOGO, au Dr Wilfried BAZIE pour votre participation à la réalisation de ce document.

Merci à monsieur SEMDE et à tous les membres de l'équipe COPEHEBO pour votre disponibilité.

Les personnes que j'ai côtoyées quotidiennement dans les différents laboratoires m'ont apporté énormément de support, qu'il soit d'ordre technique ou moral. Merci à tous.

A mes amis « compagnons de lutte » : HIEN Aristide, OUANGRE Abderrahmane, OUATTARA Issiaka , TIAHO Y. Eric, TRAORE Mamadou. Merci pour votre soutien et vos bénédictions.

Mes sincères remerciements à tous mes ami(e)s : Adama, Adèle, Amélie, Claudine, Diane , Djamilatou, Florence, Hamidou, Hugette, Marina, Patricia, Penda , Rahana, Roland, Ruffine, Kadi, Sami, Sanata, pour votre soutien et vos conseils. Merci à tous les membres de l'équipe de volley-ball IRSS/Muraz. Merci à toutes celles et tous ceux dont je n'ai pas pu citer les noms.

Table des matières

DEDICACES REMERCIEMENTS	A
TABLE DES MATIERES	D
LISTE DES FIGURES.....	F
LISTE DES TABLEAUX	G
ABBREVIATIONS ET SIGLES.....	H
RESUME.....	J
INTRODUCTION	1
I. Généralités sur les virus	4
I.1. Classification des virus	4
II. Le virus de l'hépatite B (VHB).....	5
II.1. Historique	5
II.2. Définition du VHB	5
II.3. Classification	6
II.4. Morphologie et structure du VHB	6
II.5. Multiplication du VHB	7
II.6. Mode de transmission	9
II.7. Pathogénèse et histoire naturelle du VHB	10
II.8. Marqueurs sérologiques du VHB	10
II.8.1. Marqueurs sérologique directs et indirects de la réplication virale	11
II.8.2. Marqueurs sérologiques indirects liés a la réponse immune	11
II.8.3. Les différents profils sérologiques lors d'une hépatite B aiguë	11
II.8.3.1. Cinétique des marqueurs en cas d'une hépatite B aiguë avec guérison	12
II.8.4. Les différents marqueurs en cas d'une hépatite B chronique	13
II.8.4.1 Cinétique des marqueurs dans le cas d'une hépatite B chronique.....	14
II.9. Technique de diagnostic du VHB au laboratoire.....	14
II.9.1 Test rapide	14
II.9.2 Test ELISA	15
II.9.3. Polymerase Chain Reaction : PCR virale	15
II.10. Surveillance à long terme et dépistage de l'hépatite B chronique.....	16
II.11. Traitement.....	16
II.12. Vaccination	16
III. Objectifs.....	23

III.1 Objectif général	23
III.2 Objectifs spécifiques	23
IV- Matériels	23
IV-1 Cadre d'étude	23
IV.2 Type et période de l'étude	24
IV.3.La population d'étude	24
IV.3.1. Les critères d'inclusion	24
IV.3.2. Les variables de l'étude.....	24
V. Méthodes	24
V.1.Collecte et acheminement des prélèvements sanguins	24
V.2. Analyse des échantillons	25
V.3.Traitement et analyse des données	26
V.4 .Considérations éthiques.....	27
VI. Résultats.....	27
VI.1.Description de la population étudiée.....	27
VI.2. Résultats du screening sérologique suivant l'algorithme.....	30
VI.3. Prévalence de l'AgHBs dans les tranches d'âges	31
VI.4 Les différents profils sérologiques observés	32
VI.5.L'impact du vaccin sur le portage des différents marqueurs du VHB	33
VII. Discussion	36
VII. 1. Les limites	36
VII.2. Caractéristiques de la population d'étude à l'inclusion	37
VII. 3. Dépistage sérologique suivant l'algorithme d'étude	37
VII.4. La prévalence de l'AgHBs en fonction des tranches d'âges	38
VII.5. Identification et description des différents profils observés	39
VII.6. Evaluation de l'impact de la vaccination	41
CONCLUSION.....	42
SUGGESTIONS	43
REFERENCES	46
ANNEXES.....	I

Liste des figures

Figure 1 : Génome viral du VHB des mammifères (34)	7
Figure 2: Cycle de réplication du virus de l'hépatite B (35)	8
Figure 3 : Cinétique des marqueurs dans le cas d'une hépatite B aiguë (32).....	13
Figure 4 : Cinétique des marqueurs dans le cas d'une hépatite B chronique (32)	14
Figure 5: Algorithme d'analyse des échantillons	26
Figure 6 : Distribution des différents marqueurs suivant l'algorithme.....	30
Figure 7 : Impact de la vaccination et le portage des marqueurs sérologiques du VHB chez les enfants	34

Liste des tableaux

Tableau I : Les différents profils en cas d'hépatite B aiguë (44).....	12
Tableau II : Les différents marqueurs en cas d'une hépatite B chronique (44)	13
Tableau III : Vaccination contre l'hépatite B, balance bénéfice risque (45).....	17
Tableau IV : Connaissance de L'infection par le VHB chez les enfants.....	18
Tableau V : Distribution de la population par tranche d'âges et selon le sexe	28
Tableau VI : Distribution de la population d'étude en fonction du statut vaccinal par tranche d'âges.....	29
Tableau VII : Prévalence de l'AgHBs en fonction des tranches d'âges	31
Tableau VIII : Distribution des différents profils de la population	32
Tableau IX : Distribution des différents profils en fonction du sexe	33
Tableau X : Distribution des prévalences de l'AgHBs chez les enfants ayant reçu les trois doses de vaccin et la dose de rappel par tranches d'âges.	34

ABBREVIATIONS ET SIGLES

ANAES	: Agence Nationale d'Accréditation et d'Évaluation en Santé
ANRS	: Agence Nationale de Recherche sur le Sida et les hépatites
Anti-HBc	: Anticorps dirigé contre l'antigène capsidiale du virus de l'hépatite B
Anti-HBs	: Anticorps dirigé contre l'antigène de surface du virus de l'hépatite B
Ag HBe	: Antigène « e » du virus de l'hépatite B
Ag HBs	: Antigène de surface du virus de l'hépatite B
ADN	: Acide désoxyribonucléique
ARN	: Acide ribonucléique
ARNm	: ARN messenger
ADNccc	: covalently closed circular DNA
AcHBct	: anticorps anti-HBc totaux
CERS	: Comité d'Ethique pour la Recherche Scientifique
CHC	: Carcinome hépatocellulaire
CHUSS	: Centre Hospitalier Universitaire Sourou Sanou
CM	: Centre MURAZ
CNTS	: Centre National de Transfusion Sanguine
EDTA	: Acide éthylènediaminetétraacétique
F	: féminin
IgMAcHBc	: IgM anticorps anti-HBc totaux
M	: masculin
OMS	: Organisation mondiale de la Santé
PEV	: Programme élargi de vaccination
PF	: Population féminine

PM : Population masculine

VHB : Virus de l'hépatite B

Vaccin V1 : dose 1 ; **Vaccin V2** : dose 2 ; **Vaccin V3** : dose 3 ; **Vaccin Vr** : dose de rappel

WGO : World Gastroenterology Organisation

RESUME

Les maladies du foie liées à l'infection par le VHB constituent un problème de santé publique. L'objectif de l'étude était de dresser le profil sérologique de l'hépatite B de l'enfant à Bobo - Dioulasso. Il s'agissait d'une étude prospective descriptive et analytique allant de Mars 2012 à Mai 2013. Des échantillons de plasma sanguin de 2 016 enfants avaient fait l'objet de recherche des différents marqueurs sérologiques (Ac anti-HBc totaux, AgHBs, Ac anti-HBs, AgHBe, Ac anti-HBe, Ac IgM-anti-HBc totaux) du VHB par la méthode ELISA avec des kits Monolisa® de Bio-Rad. Sur ces 2 016 enfants, 54 soit 2,67% portaient l'Ag HBs. Parmi les 54 porteur de l'AgHBs, 37 soit 68,51% avaient une hépatite B chronique avec l'AgHBe en réplication, 4 enfants soit 7,40% avaient une hépatite B aiguë et 13 enfants présentaient d'autres profils de l'hépatite B caractérisant une infection par un mutant ou une infection guérie ou ancienne. Le dépistage de l'infection par le VHB chez les enfants demeure un impératif majeur à l'instar du VIH. Une politique adéquate de vaccination devra être mise en place afin d'éviter les complications redoutables à type de cirrhose ou de cancer de foie.

Mots clés : Hépatite B, enfants, profil sérologique

Abstract

Liver diseases associated with HBV infection are a public health problem. The aim of this study was to establish the children serological profile of hepatitis B in Bobo-Dioulasso. This was a descriptive and analytical prospective study from March 2012 to May 2013. A number of 2016 children plasma of blood samples were used in order to look for HBV serological markers (anti-HBc Ab total, HBs-Ag, Ac anti-HBs, HBe-Ag, anti-HBe Ab, Ab IgM anti-HBc total) by ELISA method, with kits Monolisa® Bio-Rad. Out of these 2 016 children, 54 (2.67%) were positive to HBs-Ag. Among the 54 positive for HbsAg , 37 (68.51%) had chronic hepatitis B with HBe-Ag replication, 4 (7.40%) had acute hepatitis B and 13 children had other profiles of hepatitis B characterizing a infection by a mutant, a cured or old infection. HBV infection screening in children remains a major imperative like HIV. Proper vaccination policy should be implemented to prevent the dreaded complications like cirrhosis or liver cancer.

Keywords: Hepatitis B, Children, serological profile

INTRODUCTION

Les hépatites sont des maladies inflammatoires du foie, elles se manifestent par des signes cliniques polymorphes et leur diagnostic est confirmé par les examens biologiques. Elles sont d'origine virale dans 95 %, médicamenteuse ou toxique dans 4% et bactérienne pour 1% des cas (1). Selon le rapport de l'OMS 2014, les hépatites virales sont responsables d'environ 1,4 millions de décès par an, et 500 millions de personnes souffrent d'une hépatite virale due à l'un des 5 types: A, B, C, D, E (1; 2).

Les hépatites virales B et C, les deux types qui peuvent évoluer vers la chronicité, sont un problème majeur de santé publique. Sur une population mondiale de 7.2 milliards d'habitants, environ 2 milliards sont infectés par le virus de l'hépatite B (VHB) dont 350 millions développent une hépatite B chronique et 130 à 170 millions de personnes sont atteintes de façon chronique par le virus de l'hépatite C (VHC). Chaque année 5 millions de personnes meurent d'une hépatite B aiguë, contre 600 000 décès pour la forme chronique (2; 3).

La présence du VHB chez le nouveau né, le nourrisson ou l'enfant est souvent la conséquence d'une transmission périnatale ; in utéro, pendant l'accouchement, peu après par contact avec le sang et les autres liquides organiques de la mère ou pendant l'allaitement (4 ; 5). Elle peut aussi être d'origine horizontale lors de contact entre enfants ou avec un parent infecté (6). Le risque de transmission mère- enfant du VHB est plus important (70-90%) chez les mères porteuses de l'AgHBe que chez les mères négatives pour cet antigène (10-40%) (4 ; 7 ; 5).

L'infection demeure silencieuse sur le plan clinique pendant l'enfance mais accroît le risque de cirrhose et de cancer du foie à l'âge adulte (8). La probabilité qu'une infection par le virus de l'hépatite B devienne chronique dépend de l'âge auquel est contractée l'infection. Lorsque l'infection est acquise précocement dans l'enfance, elle est asymptomatique et évolue dans 90% des cas vers la chronicité. Seulement 5 à 7% des enfants feront une hépatite B aiguë symptomatique et de rares cas exceptionnels d'hépatites fulminantes (9). Ce sont les enfants de moins de 6 ans infectés par le VHB qui ont la plus forte probabilité de devenir porteurs chroniques. En effet entre 80 et 90% des nourrissons infectés au cours de leur première année de vie et 30 à 50% des enfants infectés entre un et quatre ans seront atteints d'une infection chronique (11). Selon l'OMS, la couverture mondiale du vaccin contre le VHB chez les nourrissons (79%) est encore inférieure à la cible fixée au départ (90%) (2).

La situation épidémiologique du VHB est particulièrement préoccupante en Asie et en Afrique. En effet, 75% des porteurs du VHB vivent en Asie et environ 50 millions de personnes sont infectées en Afrique (12). L'Afrique sub-saharienne appartient à la zone de forte endémie avec une prévalence variant de 8 à 20% pour l'Ag-HBs et de 70 à 95% pour l'Ac anti HBc suivant les zones (13 ; 14). En Afrique de l'Est (Ouganda), environ 1,4 millions d'adultes sont porteurs chroniques (15). Le Burkina Faso se situe dans la zone de forte endémicité avec une prévalence du VHB supérieure à 8%. (2) et une faible prévalence du VHC (1,2 – 2,5 %) (16). Le pays a introduit en 2006 le vaccin contre l'hépatite B dans son Programme Elargi de Vaccinations (PEV) chez les enfants de 0 à 5ans. Ce vaccin est administré aux nourrissons à partir de 2 mois en 3 injections à 1 mois d'intervalle. La vaccination est le seul moyen de prévenir l'infection par le VHB.

Quels profils sérologiques peut-on s'attendre à retrouver ? Qu'en est t-il de la prévalence du VHB dans la population pédiatrique au Burkina Faso 9 ans après l'introduction du vaccin contre le VHB dans le PEV?

Le but de notre étude est de dresser le profil sérologique de l'hépatite B chez les enfants au CHUSS de Bobo-Dioulasso, par la recherche des marqueurs de l'hépatite B (anticorps, antigènes) et leurs prévalences dans des échantillons de plasma sanguin d'enfants.



Première partie

I. Généralités sur les virus

Le virus provient du mot latin VIRUS qui veut dire : POISON. Ce sont des assemblages plus ou moins complexes de protéines et d'acide nucléique. A partir des années 30 de nouvelles technologies, biochimiques, cristallographiques, puis la microscopie électronique, permettent d'élucider la structure des virus. Ce sont des parasites obligatoires de cellules vivantes, dont ils détournent les mécanismes pour se multiplier. Ce sont de petites particules constituées de :

➤ Un génome viral :

Le génome viral est une structure très simple se résumant en un acide nucléique qui peut être soit un acide désoxyribonucléique (ADN) soit un acide ribonucléique (ARN). Le génome viral code pour 3 à plus de 100 protéines différentes (structurales et non structurales) selon les virus. L'ADN viral est en général bicaténaire, linéaire. L'ARN viral est en général monocaténaire, linéaire ou segmenté

➤ Une capsid

La capsid est une coque protéique qui assure la protection et le transport du génome viral. Elle est formée par l'assemblage de capsomères : unités de structure constituées de protéines. La capsid peut suivre un modèle cubique ou hélicoïdal.

➤ Une enveloppe ou peplos pour les virus enveloppés

C'est une structure glucido-lipido-protéique qui entoure la capsid virale, pour les virus enveloppés. Elle est acquise par bourgeonnement de la particule virale lors de la multiplication qui entraîne avec lui, une membrane de la cellule hôte infectée.

I.1. Classification des virus

David Baltimore, lauréat du prix Nobel de médecine en 1975 classifie les virus suivant le type de génome (ADN ou ARN), la forme (symétrie particularité) de la capsid et la présence ou non d'une enveloppe. Le comité International de Taxonomie des Virus (en anglais International Committee on Taxonomy of Viruses ICTV), classifie les virus par ordre, famille, sous-famille, genre et espèce.

Exemple : le virus de l'hépatite B appartient à la famille des *Hepadnaviridae* et au genre *Orthohepadnaviridae*.

II. Le virus de l'hépatite B (VHB)

II.1. Historique

Pendant la seconde guerre mondiale, les hépatites virales se propageaient chez un grand nombre de victimes transfusées. Cela a occasionné le développement de projets de recherche sur la maladie aux Etats-Unis et en Angleterre (17). Les premiers résultats de ces études, survinrent à la fin de la deuxième guerre mondiale. Ils établirent la différence entre les infections aiguës transmises par le virus de «hépatites A» à travers les aliments souillés, et les hépatites «hépatites B», sériques dont le temps d'incubation est de plusieurs mois et qui conduisent parfois à la chronicité (18 ; 19 ; 20 ; 21; 22). Une étude réalisée par Baruch S. Blumberg et son équipe , 1964 sur le polymorphisme génétique des protéines sériques, a permis d'isoler et d'étudier pour la première fois le virus de l'hépatite B (23). Vers 1969, l'analyse des dons de sang et le rejet des lots contaminés par l'antigène (Au) ont permis de réduire considérablement le développement d'hépatites «post-transfusionnelle» (24 ; 69). En 1970, les premières images de virus provenant de sérum de patients présentant une hépatite virale due à l'antigène «Australia» sont publiées par Dane et ses collaborateurs (25). On y observe trois types de particules viraux : des petites sphères et des bâtonnets de 20 nm de diamètre environ, ainsi que des particules plus grosses de 42 nm, depuis lors, appelées particules de Dane, correspondant au virus complet et contenant une capsid de 30 nm environ. Des découvertes s'enchaînent alors rapidement puis permettent d'établir la structure des virions et du génome viral. En 1975, l'équipe de P. Maupas, de Tours, publie les premiers résultats d'une vaccination contre le VHB utilisant l'antigène Australia purifié à partir de plasma de porteurs chroniques, comme source vaccinale (26). En 1986, on obtient le premier vaccin mondial obtenu par génie génétique et commercialisé : il s'agit du vaccin contre l'hépatite B (27). En 2002, Blumberg donna le nom «Australia antigen » (Au) à l'antigène ciblé (connu aujourd'hui sous le nom d'antigène de surface du VHB: AgHBs) (28; 23)

II.2. Définition du VHB

Le VHB est un virus qui diffère des autres virus à ADN de par sa structure, son pouvoir pathogène. Ce virus expose la personne infectée au risque d'hépatite fulminante, d'hépatite chronique active, de cirrhose et de cancer primitif du foie (29). Le génome viral peut subir des mutations entraînant la formation de nouveaux virus génétiquement différents. Au total, sept

(8) géotypes peuvent découler des mutations subites par ce virus : les mutants A, B, C, D, E, F, G, H (30)

II.3. Classification

Le virus de l'hépatite B appartient à la famille des *Hepadnaviridae*, Genre : Orthohepadnaviridae, à cause de son tropisme hépatique et la nature de son génome. (31). C'est un virus enveloppé à capsidie icosaédrique, il a un génome à ADN partiellement double brin (32)

II.4. Morphologie et structure du VHB

L'ADN du VHB est circulaire, partiellement bicaténaire, mesurant 3 200 paires de bases. Le génome virale présente 4 gènes importants qui codent pour quatre (4) types de protéines dont :

- le gène S constitué de 3 domaines (protéines pre-S1, pre-S2 et S) et qui code pour les protéines de l'enveloppe avec production d'Ag-HBs

- les gènes C constitué de 2 domaines (pre-C et C) qui codent pour deux types de protéines antigéniques, une constitutive de la particule virale appelée protéines du core ou de la capsidie C l'Ag-HBs et une protéine soluble non constitutive de la particule, l'Ag-HBe, excrétée lors de la phase de réplication virale.

- Un gène P qui code pour l'ADN polymérase. (33)

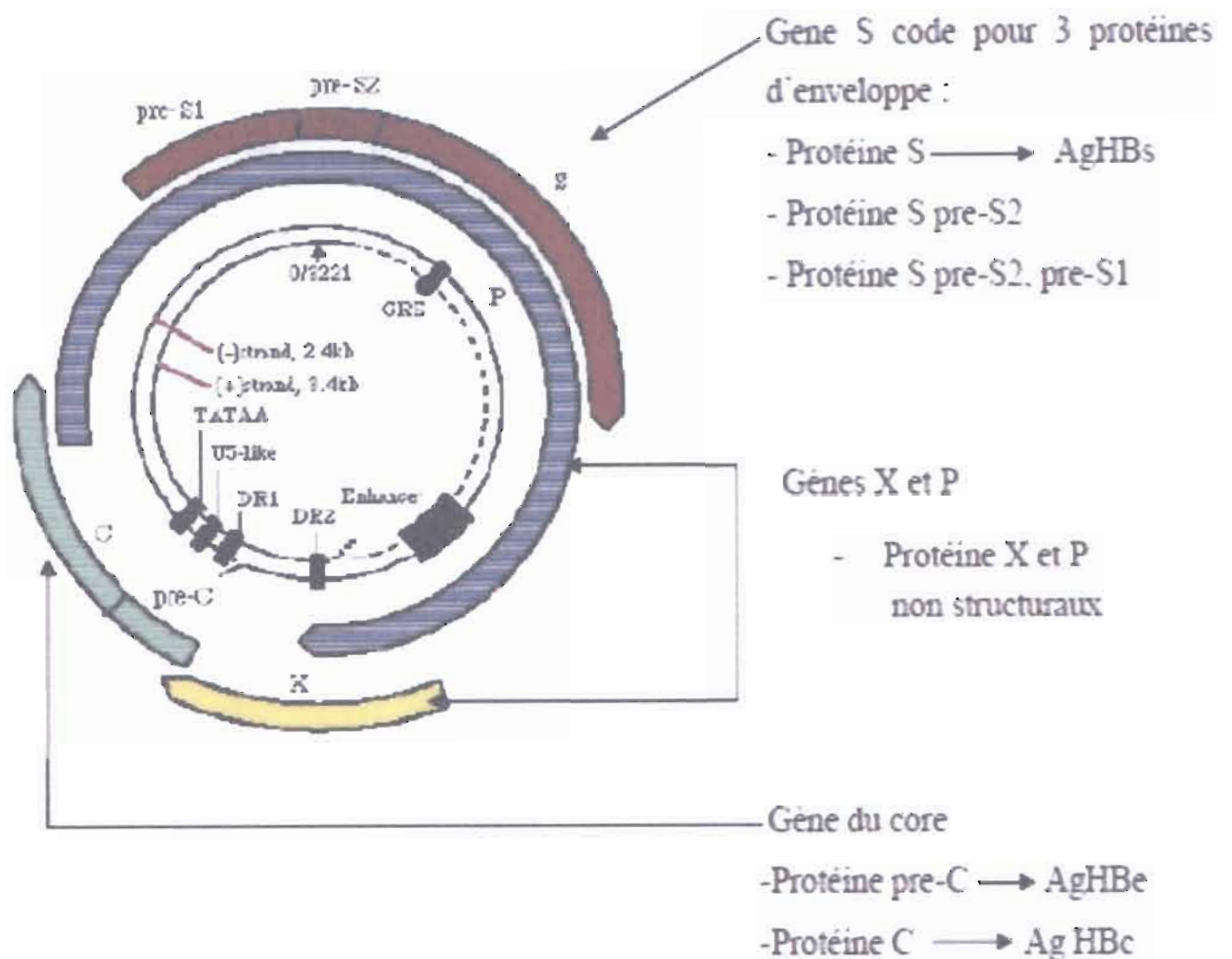


Figure 1 : Génome viral du VHB des mammifères (34)

II.5. Multiplication du VHB

Les virions du VHB se fixent à la cellule hôte (cellules hépatiques) en se liant à des récepteurs de surface. Les particules de noyau viral sont alors libérées et migrent vers le noyau des hépatocytes, où leurs génomes vont subir un arrangement pour former un ADN circulaire covalente fermé (ADNccc : covalently closed circular DNA).

Une ARN polymérase II utilise cet ADNccc comme matrice pour la transcription de l'ARN messager viral (ARNm) et de l'ARN pré-génomique. L'ARNm viral synthétisé est traduit dans le cytoplasme afin de produire des éléments pour l'assemblage des futures capsides virales. Il s'agit des protéines virales de surface, des protéines virales de base, de la protéine X et de la polymérase (petite sphère de couleur sombre à l'intérieur de la particule ; figure 2) L'ARN pré-génomique migre dans le cytoplasme et sert de matrice à la synthèse de l'AgHBc

et de la polymérase. L'incorporation de l'ARN viral pré-génomique dans la capsid (encapsidation de l'ARN), puis sa rétro-transcription en ADN viral, aboutissent à la formation de nouveaux virions. La majeure partie des nouveaux virions élaborés est libérée par bourgeonnement dans le réticulum endoplasmique de la cellule hôte emportant ainsi la membrane de cet organite comme enveloppe virale. L'autre partie sera conservée dans le noyau cellulaire sous forme d'ADNccc(70).

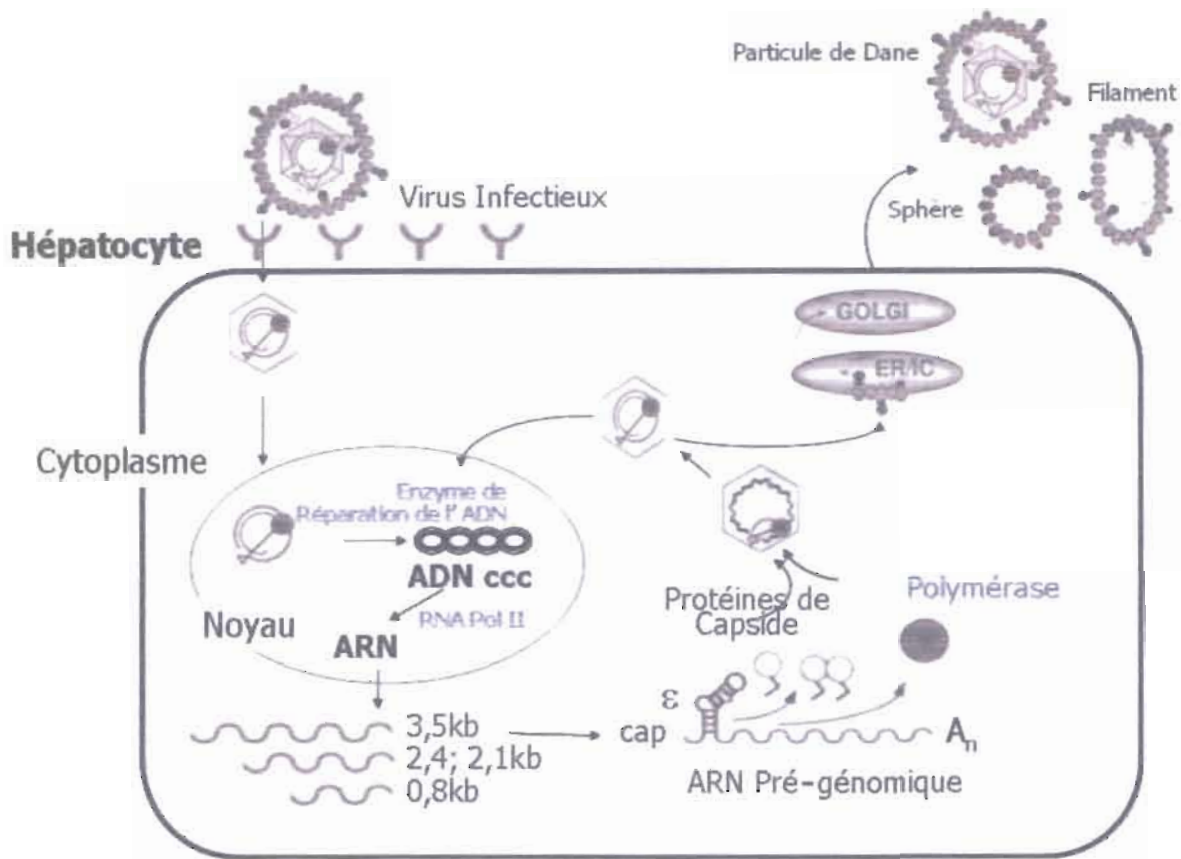


Figure 2: Cycle de réplication du virus de l'hépatite B (35)

Le virus s'attache à l'hépatocyte par le domaine pré-S1 de la grande protéine d'enveloppe. La polymérase virale associée au virion vient compléter l'ADN viral partiellement bicaténaire pour donner un ADN bicaténaire, circulaire clos de façon covalente (ADNccc) et superenroulé sur toute la longueur du génome. Il est transcrit en ARN messagers et en ARN pré-génomique. Ce dernier est incorporé dans les nouvelles capsides où la polymérase virale, fonctionnant comme transcriptase inverse, le rétro-transcrit en ADN génomique. Les

protéines d'enveloppe produites en grand excès s'assemblent dans le sérum en particules sous formes de sphères et bâtonnets, à côté des particules de Dane, minoritaires, qui sont les seules particules infectieuses. (D'après Gordien E, Cours Virus de l'hépatite B : Actualités virologiques, Institut Pasteur, Paris. Mai 2006).

II.6. Mode de transmission

Les modes de transmission du VHB peuvent être regroupés en trois catégories : parentérale, sexuelle et verticale.

La transmission du VHB par voie parentérale est la transmission du virus par contact avec le sang et les liquides biologiques (la salive, le sang, les sécrétions génitales, le sperme) d'une personne infectée. Elle est très importante car le titre très élevé du virus dans les liquides biologiques augmente le potentiel de contamination. Ainsi, de faibles quantités de liquides biologiques peuvent transmettre l'infection. Lors d'un accident d'exposition au sang (AES), risque de contamination percutanée par un patient en phase de réplication du VHB est 30% (ce risque est de 3% pour le VHC et de 0,3% pour le VIH dans les mêmes conditions) (29). Le VHB est aussi transmissible par usage d'une même lame souillée de rasage et par l'utilisation de seringues intraveineuses contaminées (36). En effet, 90% des toxicomanes utilisent des seringues communes pour l'administration de leur drogue. Cela rend la transmission du VHB, VHC et du VIH très importante dans cette population. (37)

La transmission par voie sexuelle est le principal mode de transmission chez les jeunes adultes et les adolescents dans les pays occidentaux. Le sperme, la salive et les sécrétions vaginales peuvent transmettre l'infection. Cette transmission se fait principalement lors des rapports sexuels non protégés chez les hétérosexuels comme chez les homosexuels, ensuite lors de jeux sexuelles, les contacts bucco-génitaux, anaux et bucco-anaux (38).

Chez les nouveaux nés, la transmission verticale est la plus importante notamment pendant l'accouchement et durant la période de l'allaitement. Il a été confirmé que le lait maternel contient l'Ag-HBs, l'Ag-HBe, l'ADN du VHB (39).

Le VHB peut infecter les personnes de tout âge. Il est aussi considéré comme une maladie professionnelle pour le personnel de laboratoire et le personnel médical. Il est absent dans les urines mais présent dans les selles au début de la phase ictérique et disparaît très rapidement après cette phase (40).

II.7. Pathogénèse et histoire naturelle du VHB

La pathologie hépatique liée au VHB est causée par le mécanisme à médiation immune, avec une action accentuée des lymphocytes T cytotoxiques sur la clearance virale. Cette élimination spontanée des virus se fait par lyse des cellules infectées, par apoptose, ou par l'action des cytokines. La force de la réponse immunitaire de l'hôte aussi cruciale soit-elle pour éliminer le virus, cause simultanément une insuffisance hépatique (par exemple, une forme « d'hépatite » se manifestant par un accroissement des transaminases qui survient avant que la clearance du virus ne soit achevée). Les patients chroniquement infectés sont incapables de fournir une réponse immunitaire au VHB et souffrent donc de destruction épisodique hépatocytaire (41).

Le VHB peut se révéler être un virus, capable d'échapper à la détection précoce de l'infection. Un enfant né de mère AgHBe-positif peut développer une tolérance immunitaire à l'antigène e. Cet antigène est une solution protéinique virale soluble capable de traverser le placenta et d'atteindre l'utérus (42). Cette phase de tolérance immunitaire peut continuer pendant des années ou des décennies. Les enfants nés de mères AgHBe négatives développent le plus souvent une hépatite aiguë pendant la période néonatale. Cependant l'infectivité de nombreuses femmes AgHBe-négatives est souvent très basse, si bien que seulement 20 % environ transmettent l'hépatite B à leurs enfants. (41). L'infection par le VHB dépend donc de l'interaction hôte-virus, avec une intervention de la réponse immunitaire adaptée. La réponse des cellules T spécifiques du virus contribue à la formation de la plupart des lésions hépatiques. C'est seulement très rarement (quand il y a une suppression immunitaire profonde) que le virus de l'hépatite B devient directement cytopathique (43).

II.8. Marqueurs sérologiques du VHB

Les marqueurs sérologiques du VHB sont les marqueurs que l'on peut retrouver dans le sérum et qui marquent la présence du virus dans l'organisme. Il s'agit des marqueurs directs et indirects de la réplication virale. Ce sont des protéines produites par les particules virales et des marqueurs indirects liés à la réponse immunitaire. Ces protéines sont produites par l'organisme pour se défendre contre le virus.

II.8.1. Marqueurs sérologique directs et indirects de la réplication virale

Le marqueur sérologique direct de présence du VHB est l'AgHBs. C'est une protéine de surface constitutive de la particule virale qui apparaît très rapidement autour de la 4^{ème} semaine et disparaît au début de la 24^{ème} semaine dans le cas d'une hépatite aiguë suivie d'une guérison. Cette protéine reste présente dans le sérum tout au long de la vie dans le cas d'une hépatite B chronique.

Le marqueur sérologique indirect de la réplication virale est l'AgHBe. C'est une protéine soluble non constitutive de la particule virale et qui est sécrétée lors de la réplication virale. Elle apparaît très rapidement dès l'infection puis disparaît autour du 4^e mois laissant place à l'Ac anti-HBe dans le cas d'une hépatite aiguë. Elle a un taux élevé au début qui baisse au fil des années après l'apparition des Ac anti-HBe mais reste présente encore des années dans le cas d'une hépatite B chronique avec réplication persistante, elle disparaît et fait entièrement place aux Ac anti-HBe dans le cas d'une hépatite chronique lorsque la multiplication de la particule virale s'arrête.

II.8.2. Marqueurs sérologiques indirects liés a la réponse immune

Ils sont produits par l'organisme lors d'une infection par le VHB, Il s'agit des anticorps anti-HBc de type IgG, des anticorps anti-HBc de type IgM observés lors d'hépatites B aiguës, les anticorps anti-HBs qui apparaissent en réponse aux Ag-HBs et les anticorps anti-HBe qui apparaissent en réponse à l'Ag-HBe.

II.8.3. Les différents profils sérologiques lors d'une hépatite B aiguë

La présence des Ac anti-HBc de type IgM permet de poser le diagnostic d'une hépatite aiguë. La combinaison et l'interprétation des différents autres marqueurs observés chez le patient permettent de définir le stade de l'infection et d'établir des profils (Tableau I).

Tableau I : Les différents profils en cas d'hépatite B aiguë (44)

	Les différents profils							
	Précoce	Aiguë	Etat	Conv	Conv	Guérie	Ancienne	Ancienne
AgHBs	+++	+++	+++	±	-	-	-	-
Ac Hbc	+	+	+	+	+	+	+	+
Ac anti Hbc IgM	-	++	++	+	±	-	-	-
Ac anti HBs	-	-	-	-	-	+	+	±
AgHBe	++	++	++	±	-	-	-	-
Ac anti Hbe	-	-	-	+	+	+	±	-
ADN	++	++	++	++	++	±	-	-

II.8.3.1. Cinétique des marqueurs en cas d'une hépatite B aiguë avec guérison

Lors de la phase aiguë, on observe une première phase dite : Phase précoce. Cette phase est marquée par la présence de l'AgHBs, des Ac anti-HBc, de l'antigène de réplication (AgHBe) et de l'ADN viral. Ensuite vient la phase d'Etat ou phase Aigue où apparaissent les Ac IgM-anti-HBc. Après cette phase, intervient la phase de convalescence marquée par une disparition progressive de l'AgHBs, de l'AgHBe, des Ac IgM-anti-HBc et l'apparition progressive des Ac anti-HBe plus un arrêt de la réplication. La guérison vient à la suite de cette phase et est marquée par la présence des Ac anti-HBc indiquant le contact ancien avec le VHB. Cette phase est aussi marquée par l'apparition des Ac anti-HBs, la disparition totale de l'AgHBs, l'AgHBe, des Ac IgM-anti-HBc, des Ac anti-HBe et même des Ac anti-HBs si la guérison est définitive. Cependant au lieu de la guérison, le portage du virus(VHB) peut passer de l'état aigu de l'infection à la chronicité. La figure 3 présente la cinétique des marqueurs dans le cas d'une hépatite B aiguë.

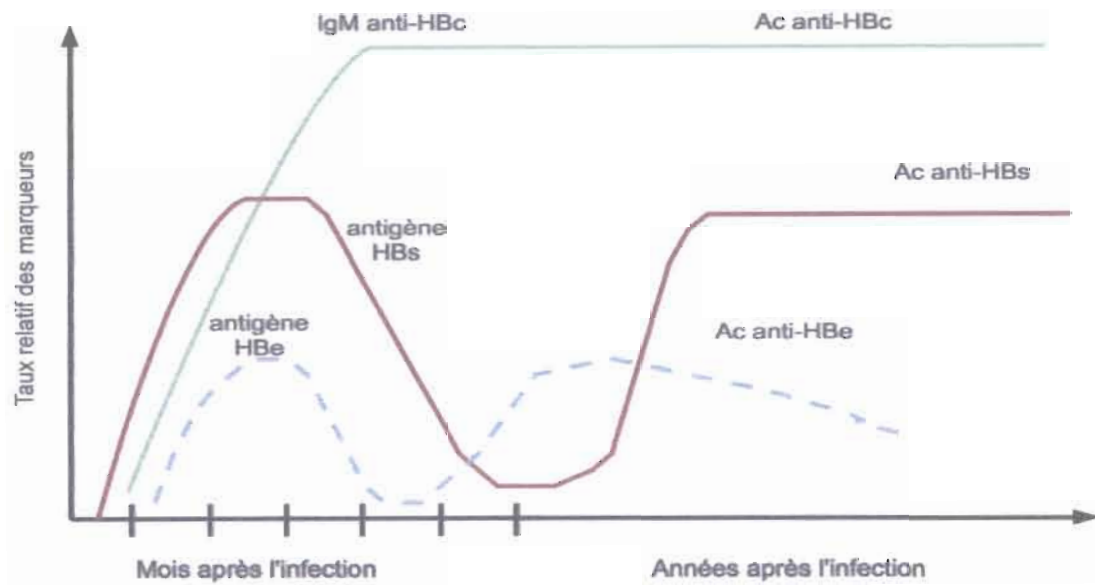


Figure 3 : Cinétique des marqueurs dans le cas d'une hépatite B aiguë (32)

II.8.4. Les différents marqueurs en cas d'une hépatite B chronique

La chronicité est marquée par la présence permanente des IgG à la place des IgM. Lors de cette phase, le malade peut passer par des phases intermédiaires comme la réactivation. Il peut aussi connaître des mutations.

Tableau II : Les différents marqueurs en cas d'une hépatite B chronique (44)

Marqueurs	Les différentes étapes					
	Immuno-tolérance	Immuno-élimination	latence	Réactivation	Mutant pre-core	Mutant HBs
AgHBs	++	++	++	++	++	++
Ac anti HBc	+	+	+	+	+	+
Ac anti HBc IgM	-	±	-	±	-	-
Ac anti HBs	-	-	-	-	-	+
AgHBe	+	+	-	±	-	± ou +
Ac anti HBe	-	-	±	±	+	± ou +
ADN	+++	++	++	++	++	++
Transaminases	normales	élevées	normales	élevées	élevées	variable

II.8.4.1 Cinétique des marqueurs dans le cas d'une hépatite B chronique

La première phase de la chronicité est marquée par la tolérance du virus par l'organisme. L'AgHBs et l'AgHBe sont les marqueurs de présence et de réplication du virus. Ensuite l'élimination du virus se caractérise par l'apparition des IgM-Ac HBc. La phase de latence est marquée par la disparition des IgM et l'apparition des AcHBe signe que les défenses de l'organisme se mettent en place. A l'issue de la phase de latence, il y'a trois phases qui peuvent suivre : soit la réplication virale recommence. En ce moment, on parle de réactivation. Soit, les AcHBe persistent et les AgHBe disparaissent, on parle d'une hépatite à mutant pre-core. Soit les Ac anti HBs apparaissent en même temps que les AgHBs, on parle de mutant HBs.

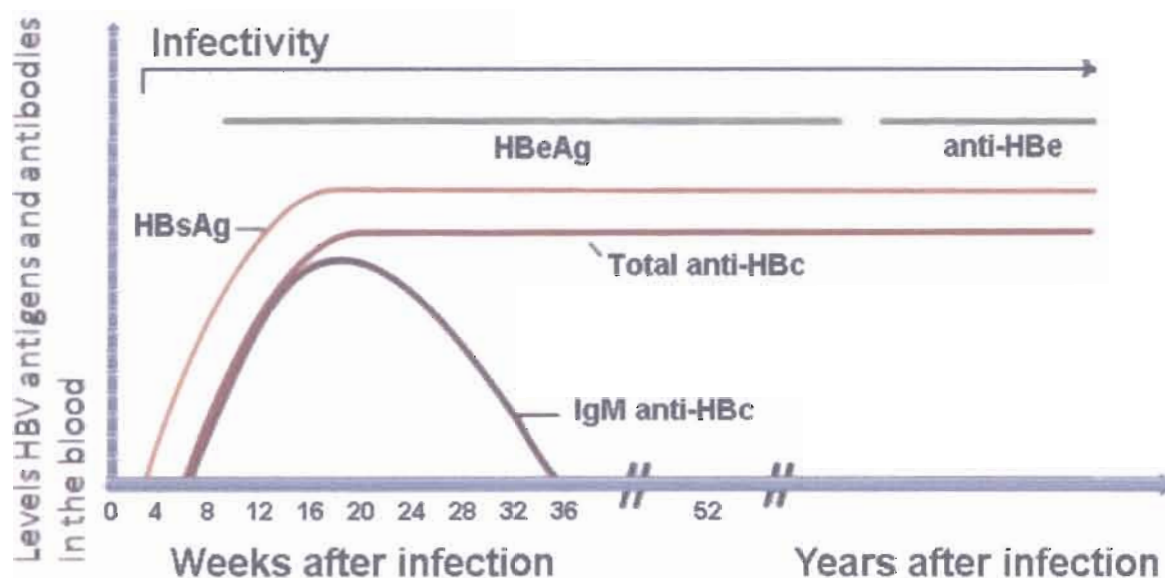


Figure 4 : Cinétique des marqueurs dans le cas d'une hépatite B chronique (32)

II.9. Technique de diagnostic du VHB au laboratoire

II.9.1 Test rapide

Ce sont des techniques d'analyses biologiques qui permettent de confirmer rapidement la suspicion diagnostique du médecin. Ils sont simples à réaliser et ne demandent pas d'être exécutés dans un laboratoire spécialisé. Ainsi, ils sont moins coûteux et accessibles à tous les

patients. En général, ils sont de type immunochromatographique. Ces tests sont facilement réalisables.

- Leur stockage se fait généralement à température ambiante
- Ils sont réalisables en tout lieu, tout endroit
- Les résultats sont satisfaisants en termes de sensibilité et de spécificité lors de la phase chronique de l'infection et les résultats obtenus ici sont qualitatifs.

II.9.2 Test ELISA

Les tests ELISA sont des tests exécutés uniquement dans les laboratoires spécialisés car ils requièrent l'existence d'appareils spécialisés pour la réalisation des étapes qui composent la chaîne ELISA. Les résultats obtenus dans ce test peuvent être qualitatif ou quantitatif. Ces tests ont :

- Une grande sensibilité y compris en primo-infectio
- Une excellente spécificité
- Facilement évaluable sur les panels congelés
- Automatisables à haut débit
- Réalisés à 37 °C.
- Le coût est supportable
- On a une traçabilité et un enregistrement informatique des résultats

II.9.3.Polymerase Chain Reaction : PCR virale

La "Polymerase Chain Reaction" n'est réalisable que dans de grands centres d'analyses hautement spécialisés. C'est un examen coûteux, qui prend du temps mais qui fournit des résultats de pointe. Il exige l'usage d'appareils (exemple : thermocycleur) et de techniciens spécialisés et expérimentés. Il donne des résultats quantitatifs et des valeurs caractéristiques dont la charge virale : c'est la quantité de virus contenu dans un millilitre de sang et cela permet de donner approximativement la quantité de virus dans l'organisme du malade.

II.10. Surveillance à long terme et dépistage de l'hépatite B chronique

Les individus présentant une infection chronique du VHB récemment découverte doivent être suivis durant une longue période pour éviter l'avènement d'une cirrhose ou d'un carcinome hépatocellulaire. Cette surveillance se fait via une série d'examens cliniques et de tests de laboratoire, même pour des patients asymptomatiques. Il est important de vérifier le stade de l'hépatite B chronique afin de décider de la fréquence des examens de suivis nécessaires et de la mise sous traitement. L'examen initial doit inclure les points suivants :

- Une étude sociodémographique du patient et un examen physique, spécialement de la peau (ictère) et de l'abdomen (gonflement).
- La recherche de marqueurs tels que les AgHBe/anti-HBe et ADN VHB pour identifier l'étape de l'infection chronique et le génotype du virus si on prévoit une thérapie antivirale avec interféron. .
- Une évaluation de la fonction hépatique
- Une numération formule sanguine
- Une échographie abdominale pour dépister le carcinome hépatocellulaire.
- Le diagnostic d'autres infections virales comme VHC et VHD, en particulier si l'ALAT est élevé, mais l'ADN VHB peut être bas ou indétectable.
- Une sérologie VIH du patient avant toute thérapie antivirale orale.
- Une ponction biopsie du foie peut être faite si nécessaire

II.11. Traitement

Il n'est réalisé que lorsque l'individu infecté par le virus présente une répllication virale. Pour le traitement du patient, on peut utiliser certains interférons, ou des antiviraux inhibiteurs de la polymérase virale : la lamivudine, l'adefovir, l'entecavir, la telbivudine et le ténofovir. Le type de traitement proposé par le médecin traitant dépendra de la charge virale du VHB, de l'existence d'une co-infection notamment par le VHC, le VIH ou tout autre virus hépatocyttaire. Il va dépendre aussi de l'élévation des taux de transaminases (ALAT, ASAT) dans le sérum qui reflètent l'intensité de la nécrose hépatocyttaire.

II.12. Vaccination

La vaccination contre le VHB est une démarche de santé publique pour réduire la morbidité et la mortalité liée à cette infection. En effet, le passage à la chronicité lors

de cette infection serait de 5% à 10% chez les adultes immunocompétents, 30% à 40% chez les adultes immunodéprimés, 45% à 60% chez les adultes hémodialysés et diabétiques, 50% à 70% chez les nourrissons de 1 à 12 mois, 80% chez les enfants de 1 à 4 ans et 90% chez les nouveaux nés (45). La vaccination contre le VHB a montré son efficacité dans certaines zones hyper- endémiques où la prévalence de l'Ag-HBs a fortement chuté. Elle a chuté de 5,2 à 0 en Alaska, de 5,4 à 0,8 en Thaïlande, de 6,2 à 2, en Indonésie de 8,8 à 0,5 à Shangai(en Chine), de 9,8 à 0,7 en Taiwan, de 12 à 0,9 en Gambie, de 14,6 à 1,4 en général en Chine (45). Selon le haut conseil de santé publique de la France, la vaccination contre le VHB devrait s'appliquer en priorité et de façon systématique chez tous les nouveaux nés. Le rattrapage de la vaccination chez les enfants et les adolescents devrait être poursuivi jusqu'à l'âge de 15 ans (46). La recherche d'Ag-HBs doit être obligatoire chez la femme enceinte. Elle se fait au sixième mois de la grossesse et la vaccination des nouveaux nés doit se faire le premier jour de naissance pour les femmes porteuses chroniques d'Ag-HBs (47). Le succès de la vaccination peut être constaté par le dosage du titre des Ac anti-HBs. Il doit être supérieur ou égale à 10UI/l pour garantir une bonne protection. La persistance de ces anticorps dépend du titre atteint un mois après la troisième dose de la vaccination (48). Chez un individu immuno- compétent ayant reçu les trois doses de vaccination, les anticorps anti-HBs peuvent persister plus de 10 ans et leur disparition sous le seuil de 10UI/l n'entraîne pas la perte de protection contre la maladie. L'efficacité à long terme est ensuite assurée par les lymphocytes B mémoires induites par la vaccination (45). Le tableau III ci-dessous illustre le temps de persistance des Ac anti-HBs en fonction du titre d'Ac anti-HBs produits par l'organisme après la vaccination

Tableau III : Vaccination contre l'hépatite B, balance bénéfice risque (45)

Pic en Ac anti-HBs en UI / l (1 à 2 mois après la vaccination)	< 100	500	1000	2000
Durée pendant laquelle Ac anti-HBs > 10 UI / l	< 5	> 15	> 20	> 40

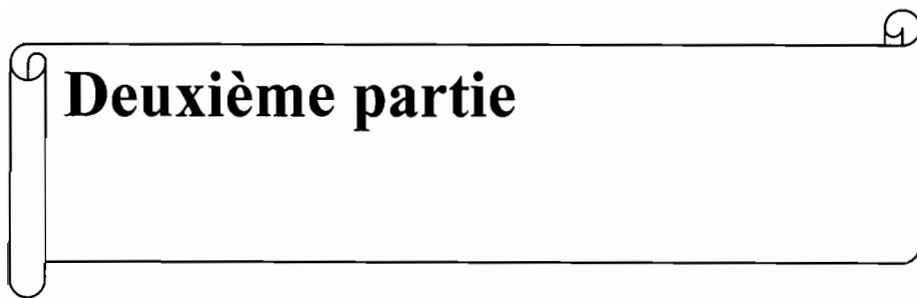
Tableau IV : Connaissance de L'infection par le VHB chez les enfants

N°	Auteurs Date	Objectifs	Méthodologie	Résultats	Message tiré
1	Nacro B, et al 2001	Evaluer la prévalence de l'AgHBs chez les enfants soupçonnés d'une infection par le VIH à Bobo-Dioulasso, Burkina Faso	Recherche des AgHBs et le génome du VIH chez 103 enfants par le test ELISA	39,8% étaient positifs en AgHBs et 57,3% avaient un statut VIH positif	La prévalence de l'AgHBs est très élevée dans le groupe d'enfants infecté par le VIH. Elle est de 39,8%
2	S. Qamer, 2004	Estimer la période spécifique de séroprévalence de l'AgHBs chez l'enfant de plus de 14 ans en Inde	Recherche de l'AgHBs chez 460 enfants	4,35% portaient l'AgHBs indépendamment du sexe et de la zone : rurale ou urbaine	Forte prévalence de l'AgHBs en zone endémique
3	Bortolotti F et al, 2006	Décrire les résultats de 29 ans d'étude sur le VHB chronique chez les enfants en Caucase	99 enfants blancs atteints d'hépatite B chronique, principalement acquis horizontalement: 91 avaient AgHBe (4	Au bout de 14,6 ans d'observation, 4 enfants avaient subi une réactivation virale B. Deux des 4 enfants avaient une cirrhose et	Le suivi des enfants présentant une hépatite B chronique est important. De façon silencieuse, l'infection peut entraîner une

			présentaient une cirrhose), et 8 étaient AgHBe négatif.	deux présentaient un Carcinome-hépatocellulaire.	cirrhose et un cancer primitif du foie.
4	François Rouet et al 2008	Etudier l'évolution du VHB chez les enfants co-infectés par le VIH-1 en Cote d'Ivoire	Cohorte de 280 enfants infectés par le VIH-1 et co-infectés par le VHB	12,1% des enfants avaient l'AgHBs ; le taux le plus élevé d'hépatite B chronique chez les enfants. 82,4% avaient l'AgHBe	La prise en charge du VIH-1 des enfants co-infectés par le VHB est très difficile. La 3TC provoque souvent des réactivations de l'AgHBe.
5	Ilboudo D et al 2007	Evaluer la Prévalence du virus de l'herpès humaine 8 et le virus de l'hépatite B chez les femmes enceintes séropositives VIH inscrites dans le programme de Prévention de la Transmission Mère-Enfant du VIH au	379 femmes enceintes fréquentant les consultations prénatales au centre médical Saint Camille étaient soumises aux tests : anticorps HHV-8, AgHBs et la détection du VIH	10,02% des femmes étaient infectées par le HHV-8 et 7,91% avaient l'AgHBs. En dépit de l'application du protocole de PTME, 5 femmes soit (10,42%) VIH positif ont transmis le VIH à leurs enfants. Parmi ces 5 femmes infectées par le	La prévalence de l'hépatite B chez les femmes enceintes co-infectés par le VIH est très élevée et cette co-infection favorise la transmission mère enfant du VIH.

		Centre médical Saint Camille au Burkina Faso		VIH, une mère (20,0%) avait le VHB et deux (40,0%) HHV-8 positif	
6	Xuejun Chen et al 2006 2010	Déterminer les différents profils sérologiques du VHB par la technique de l'électrochimiluminescence et distribution de ses profils chez les enfants et adolescents hospitalisés à Zhejiang, en Chine entre 2006 et 2010.	Recherche des 5 marqueurs spécifiques du VHB chez 33187 enfants par la méthode électrochimiluminescence immunoassay (ECLIA)	Prévalence des différents marqueurs du VHB, les différents profils observés en fonction du sexe et de l'âge	La distribution des différents profils sérologique est fonction de l'âge mais indépendant du sexe
7	Takako_Utsumi et al 2010	Etudier le statut sérologique et les caractéristiques virologiques de l'hépatite B chez les enfants à l'Est de JAVA	229 enfants en bonne santé ont été inclus dans cette étude.	3,1% avaient l'AgHBs et 23,6% avaient les anti-HBs. L'ADN du VHB a été détecté chez 5 sur 222 négatifs pour l'AgHBs, évoquant des cas d'infection par le	La Prévalence de l'AgHBs était élevée chez les enfants en Indonésie

				VHB occulte	
8	G.Escobedo Melendez et al, 2012	Evaluer les marqueurs sérologiques de l'Hépatite A, B et C chez les enfants à l'ouest de Mexico	Recherche des différents marqueurs du VHB chez 31 818 enfants admis dans un hôpital supérieur de Mexique de 2005 à 2009.	Le VHB a été trouvé chez 215 soit 0,7% des enfants. Les échantillons positifs en AgHBs ont été ciblés pour la recherche des IgM VHA, des anti-HBc et anti-VHC	La Prévalence de l'AgHBs était de 3,1% chez les enfants à l'Ouest de Mexico
9	Livia Melo Villar et al, 2014	Déterminer la prévalence du VHB et du VHC chez les enfants et les adolescents qui fréquentent les écoles et les garderies de Rio de Janeiro État, situé dans le sud du Brésil	Des échantillons de sérum de 1 217 personnes âgées de 0 à 18 ans ont été recueillis de 1999 à 2012 et testés pour anti-HBc, anti-HBs et anti-VHC par ELISA.	L'ADN a été détecté chez 18 des 51 individus qui présentaient AgHBs ou anti-HBc isolés. Trois personnes avaient les Ac anti-VHC et l'ARN du VHC. Deux d'entre eux ont été infectés par le génotype 1, et l'autre a été infecté par le génotype 3	La Prévalence d'une hépatite B guérie était de 1,2%



Deuxième partie

III. Objectifs

III.1 Objectif général

- Etudier le profil sérologique de l'hépatite B de l'enfant à Bobo-Dioulasso

III.2 Objectifs spécifiques

- Décrire les caractéristiques de la population d'étude à l'inclusion
- Présenter les résultats du dépistage sérologique à partir de l'algorithme d'étude
- Déterminer la prévalence de l'AgHBs en fonction des tranches d'âges
- Identifier les différents profils sérologiques observés et déterminer leurs prévalences
- Evaluer l'impact du vaccin contre le VHB sur le portage des marqueurs sérologiques étudiés et selon les tranches d'âges

IV- Matériels

IV-1 Cadre d'étude

Notre étude s'était déroulée au Centre Hospitalier Universitaire Souro Sanou (CHUSS) et au Centre MURAZ de Bobo Dioulasso. Deuxième ville, et capitale économique du Burkina Faso, Bobo-Dioulasso se situe dans la région des Hauts Bassins, province du Houet.

Le CHUSS est le plus grand centre de soin public de Bobo Dioulasso. Il est situé au cœur de la ville, non loin du palais de la justice. Le Département de pédiatrie est dirigé par un Professeur de Médecine. Ce département abrite un hôpital de jour (hôpital de jour pédiatrique du CHUSS) qui assure un suivi et la prise en charge du VIH pédiatrique.

Le Centre MURAZ a été créé en 1939, il se dénommait alors "Service Général Autonome de la Maladie du Sommeil (SGAMS)". En 1956, le SGAMS prend la dénomination de "Centre MURAZ" en l'honneur de son premier Directeur, le médecin militaire français Gaston MURAZ. Le centre est devenu un Etablissement public de la Santé (EPS) depuis 2001. Il est situé non loin de la gare ferroviaire. En plus des grandes maladies endémiques, il s'intéresse essentiellement à des maladies telles que le paludisme, les IST/VIH/SIDA et maladies associées (telle que la tuberculose), la fièvre jaune et la méningite.

Les Prélèvements ont été faits à l'hôpital de jour du CHUSS et les analyses biologiques des échantillons ont été réalisées au laboratoire de virologie du Centre MURAZ

IV.2 Type et période de l'étude

- il s'agissait d'une étude descriptive et analytique. Les données cliniques et les échantillons avaient été collectés de mars 2012 à mai 2013.

IV.3.La population d'étude

Notre population d'étude était composée d' :

- Enfants hospitalisés ou fréquentant le département de pédiatrie du CHUSS durant la période de l'étude
- Enfants nés de mères infectés par le VHB

IV.3.1. Les critères d'inclusion

- Ont été inclus dans cette étude, les enfants âgés de 0 à 15ans
- Avoir l'approbation et la signature du formulaire de consentement par les parents ou le tuteur de l'enfant

IV.3.2. Les variables de l'étude

- Données sociodémographiques
 - Age
 - Sexe
- Données biologiques (marqueurs du VHB)
 - AgHBs, AgHBe, Ac anti-HBe, Ac anti-HBc totaux, Ac anti-HBs, IgM anti HBc
- Données cliniques
 - Statut vaccinal contre le VHB

V. Méthodes

V.1.Collecte et acheminement des prélèvements sanguins

Les échantillons de sang ont été prélevés à l'hôpital de Jour du département de la pédiatrie du CHUSS dans le cadre d'une étude de l'Agence Nationale de Recherche sur le Sida et les hépatites (ANRS) 12191. Le sang était recueilli dans des tubes EDTA étiquetés. L'étiquette comportait les inscriptions suivantes: un numéro d'identification du participant et la date de

prélèvement. Au laboratoire, un numéro laboratoire était attribué suivant l'ordre de prélèvement et/ou de transmission.

V.2. Analyse des échantillons

❖ Conditionnement et acheminement des échantillons

Dans un premier temps, le sang total était récupéré centrifugé à 3000 tours/mn pendant 10 mn, afin de séparer le plasma. Au plus 4 aliquots de 400 microlitres de plasma avaient été réalisés pour chaque échantillon dans des cryotubes. Les cryotubes bien étiquetés étaient transmis au laboratoire de virologie du Centre Muraz en respectant la chaîne du froid

Par la suite les prélèvements de sang total étaient transmis directement au laboratoire de virologie pour le traitement et le conditionnement dans un congélateur à -80°C du Centre Muraz.

❖ Techniques d'études : Test ELISA

Le diagnostic sérologique du VHB était réalisé au laboratoire de Virologie du Centre MURAZ. Pour ce faire, nous avons utilisé les réactifs BIORAD MONOLISA, basés sur la mise en évidence par ELISA dans le plasma des marqueurs biologiques suivants : anticorps anti-HBc totaux, AgHBs, anticorps anti-HBs, anticorps IgM-anti-HBc, AgHBe/anti-HBe conformément à l'algorithme prévu dans le protocole de l'étude. Tous les tests avaient été réalisés conformément aux instructions du fabricant (en annexe). Pour tous les échantillons, la recherche des anticorps anti-HBc totaux était faite en première intention. Les échantillons trouvés positifs étaient testés pour la présence ou non de l'AgHBs. Le caractère chronique de l'hépatite B avait été confirmé par l'absence des anticorps IgM-anti-HBc dans les échantillons positifs pour l'AgHBs. Ces échantillons à Ac IgM-anti-HBc négatifs avaient par la suite été testés par le couple Ag HBe/Anti-HBe. Les échantillons avaient été testés suivant l'algorithme d'analyse ci-dessous.

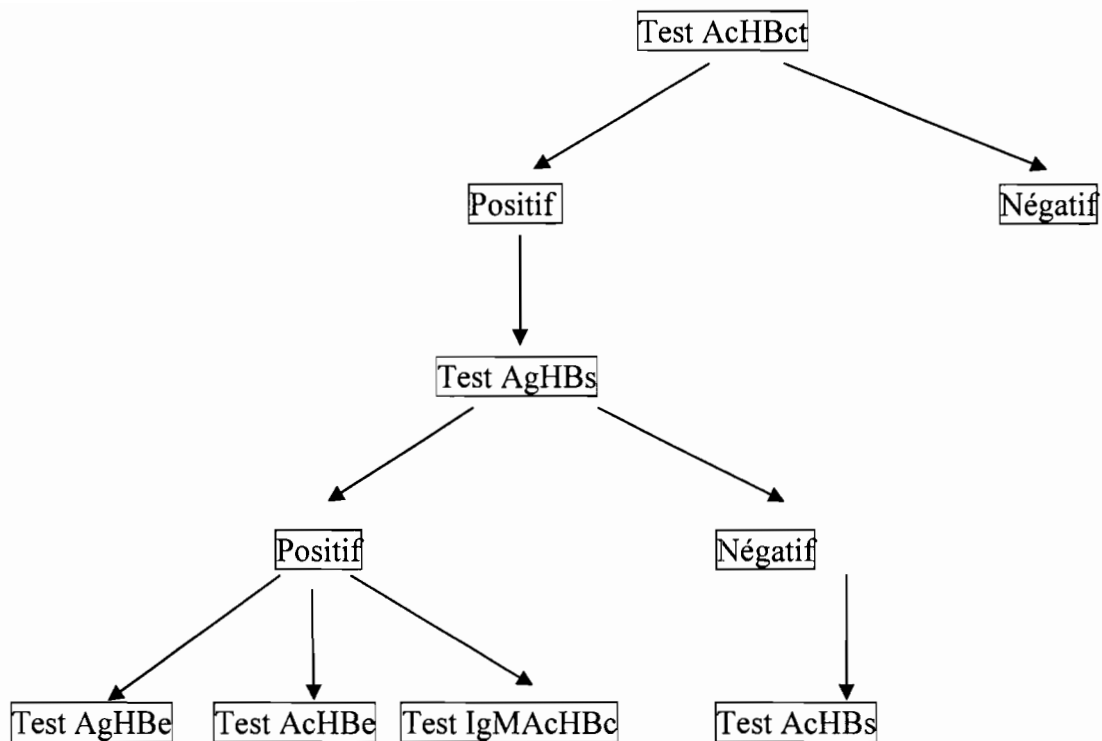


Figure 5: Algorithme d'analyse des échantillons

V.3.Traitement et analyse des données

Les critères de validation des différents tests sont configurés sur le lecteur de plaque. Ce lecteur est connecté à un ordinateur qui permet de lire les résultats des tests sur l'écran de l'ordinateur et de les stocker. La procédure de lecture de plaque intègre le logiciel EPI info. Les résultats obtenus sur ce logiciel ont été saisis sur le logiciel Excel. Ensuite ces données ont été traitées et analysées par le logiciel STATA, XLSTAT 2015.1.01. Le calcul des p-values et des coefficients de corrélation (r) nous ont permis de porter un jugement sur la significativité de certains résultats et de pouvoir comparer d'autres résultats. La p-value = 0,05 était retenu comme seuil de significativité.

Si p-value \leq 0,05; elle est significative

Si p-value \geq 0,05; elle est non significative

Si r tend vers 0, alors il n'y a pas de corrélation, les deux hypothèses ne sont pas liées

Si r tend vers 1, alors la corrélation existe, alors les deux hypothèses sont liées.

Pour le calcul des fréquences, nous avons utilisé la formule suivante :

$$\% = \frac{\text{Effectif du groupe concerné}}{\text{Population total}} * 100$$

V.4 .Considérations éthiques

Notre étude a été réalisée dans le cadre du projet ANRS 12191 qui a reçu un avis favorable du Comité d’Ethique pour la Recherche en Santé (CERS) du Burkina Faso. Pour chaque participant, un consentement éclairé a été recueilli pour la participation à l’étude, à la collecte des échantillons biologiques et à l’administration d’un questionnaire.

VI. Résultats

VI.1.Description de la population étudiée

Notre étude a porté sur 2 016 enfants recrutés dans le département de pédiatrie du CHUSS de la ville de Bobo-Dioulasso : une population d’enfants âgés de deux (2) semaines à 186 mois (2 semaines à 15,5 ans) dont la majorité avait un âge compris entre 1 mois à 2 ans. L’âge médian était de 58 mois \pm 48,82. La population comprenait 1 027 enfants de sexe masculin soit 50,94% et 989 enfants de sexe féminin soit 49,05%. Le sexe ratio est de 1,03. Le tableau V illustre la constitution de la population.

Tableau V : Distribution de la population par tranche d'âges et selon le sexe

	AGE (mois)	Effectifs par tranche d'âges		Masculin		Féminin	
		Total	P%	nombre	P%	nombre	P%
1	[0-12]	294	14,58	154	52,38	140	47,61
2] 12-24]	228	11,31	117	51,31	111	48,68
3] 24-36]	205	10,16	108	52,68	97	42,54
4] 36-48]	137	6,79	73	53,28	64	46,71
5] 48-60]	178	8,82	86	48,31	92	51,68
6] 60-72]	128	6,34	65	50,78	63	49,21
7] 72-84]	118	5,85	51	43,22	67	56,78
8] 84-96]	128	6,34	60	46,87	68	53,12
9] 96-108]	107	5,30	60	56,06	47	43,92
10] 108-120]	121	6,00	68	56,19	53	43,80
11] 120-132]	110	5,45	54	49,09	56	50,90
12] 132-144]	83	4,11	43	51,80	40	48,19
13] 144-156]	77	3,81	37	48,05	40	51,94
14] 156-168]	77	3,81	37	48,05	40	51,94
15] 168-180]	22	1,09	12	54,54	10	45,45
16] 180+	3	0,14	1	33,33	2	66,66
	TOTAL	2016		1027		989	
				50,91		49,08	

Les effectifs des tranches d'âges de 0 à 72 mois sont élevés comparativement aux effectifs des tranches d'âges de plus de 72 mois.

Tableau VI : Distribution de la population d'étude en fonction du statut vaccinal par tranche d'âges

	AGE (mois)	Effectifs par tranche d'âges		Couverture vaccinale par tranche d'âges		Taux d'enfants ayant reçu 3 doses de vaccin
		Total	P%	Total	P%	P%
1	[0-12]	294	14,58	134	45,57	6,64
2] 12-24]	228	11,31	119	52,19	5,90
3] 24-36]	205	10,16	94	45,85	4,66
4] 36-48]	137	6,79	60	43,97	2,97
5] 48-60]	178	8,82	81	45,50	4,01
6] 60-72]	128	6,34	37	28,90	1,83
7] 72-84]	118	5,85	25	21,18	1,24
8] 84-96]	128	6,34	22	17,18	1,09
9] 96-108]	107	5,30	17	15,88	0,84
10] 108-120]	121	6,00	26	21,48	1,28
11] 120-132]	110	5,45	14	12,72	0,69
12] 132-144]	83	4,11	13	15,66	0,64
13] 144-156]	77	3,81	16	20,77	0,79
14] 156-168]	77	3,81	16	20,77	0,79
15] 168-180]	22	1,09	1	4,54	0,04
16] 180+	3	0,14	0	0	0
	TOTAL	2016	100	675		33,48

Sur un total de 2016 enfants de 0 à 15,5 ans, seulement 675 avaient reçu les trois doses de vaccin suivant les recommandations de l'OMS correspondant à une couverture vaccinale de 33,48%.

Dans les tranches d'âges de 0 à 72 mois, les pourcentages de participants vaccinés décroissent de 6,63 à 1,84.

Dans les tranches d'âges de plus de 84 mois, les pourcentages décroissent également de 1,28 à 0.

VI.2. Résultats du screening sérologique suivant l'algorithme

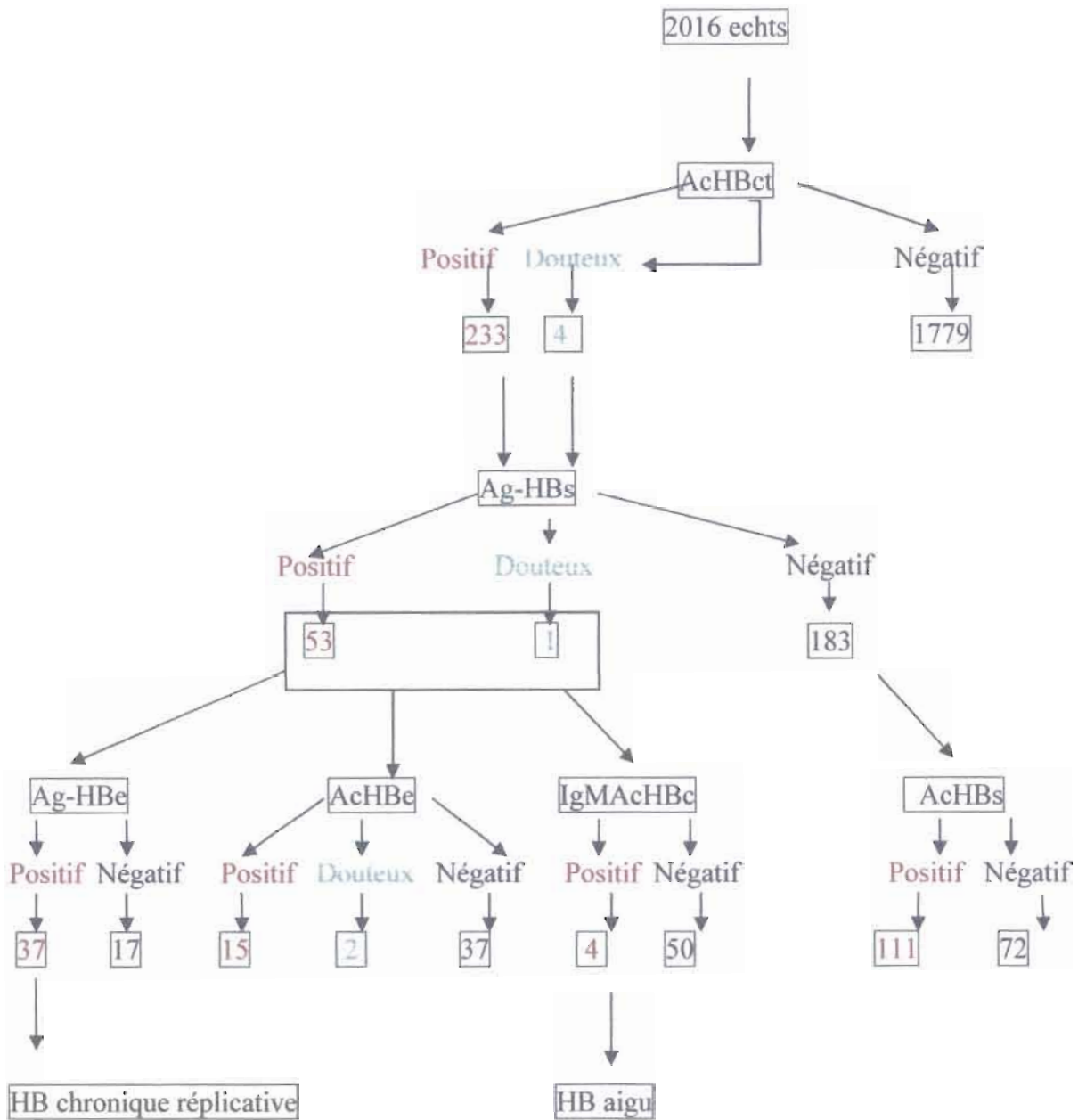


Figure 6 : Distribution des différents marqueurs suivant l'algorithme

4 participants sont restés douteux pour le test Ac anti-HBc totaux.

1 participant était resté douteux après le test AgHBs.

2 participants étaient restés douteux pour l'Ac anti-HBe

La prévalence des différents marqueurs sérologiques observés : 11,56% pour les anticorps anti-HBc totaux ; 2,63% pour l'AgHBs ; 5,50% pour les anticorps anti-HBs ; 1,83% pour l'AgHBe ; 0,75% pour les anticorps anti-HBe et 0,19% pour les anticorps IgM anti-HBc.

Tous les échantillons douteux ont été considérés comme positifs pour la réalisation du test suivant.

Quatre enfants soit (7,40%) portant l'AgHBs présentaient un profil aigu de l'hépatite B et 37 (68,51%) porteurs de l'AgHBs avaient le profil d'une hépatite B chronique.

VI.3. Prévalence de l'AgHBs dans les tranches d'âges

Tableau VII : Prévalence de l'AgHBs en fonction des tranches d'âges

	AGE (mois)	Nombre enfants par tranche d'âges		Nombre d'enfants Ag-HBs Positif	
		Total	P%	Total	P%
1	[0-12]	294	14,58	1	0,04
2] 12-24]	228	11,31	4	0,19
3] 24-36]	205	10,16	0	0
4] 36-48]	137	6,79	2	0,09
5] 48-60]	178	8,82	2	0,09
6] 60-72]	128	6,34	2	0,09
7] 72-84]	118	5,85	4	0,19
8] 84-96]	128	6,34	6	0,29
9] 96-108]	107	5,30	6	0,29
10] 108-120]	121	6,00	7	0,34
11] 120-132]	110	5,45	4	0,19
12] 132-144]	83	4,11	5	0,24
13] 144-156]	77	3,81	2	0,09
14] 156-168]	77	3,81	6	0,29
15] 168-180]	22	1,09	2	0,09
16] 180+	3	0,14	0	0
	TOTAL	2016	100	53	2,62

La prévalence générale dans la population était de 2,62% et le portage de l'AgHBs était plus important dans les tranches d'âges de 84 à 168 (7 ans à 14 ans)

VI.4 Les différents profils sérologiques observés

Tableau VIII : Distribution des différents profils de la population

Profil	Ac anti-HBc totaux	AgHBs	Ac anti-HBs	AgHBe	Ac anti-HBe	Ac IgM-anti-HBc	Effectif	% par rapport à la population total
1	+	-	-	-	-	-	72 ^{*a}	3,52
2	+	-	+				111 ^{*b}	5,40
3	+	+		-	-	-	05 ^{*c}	0,14
4	+	+		+	-	-	31	1,54
5	+	+		+	+	-	04 ^{*d}	0,14
6	+	+		-	+	-	10 ^{*e}	0,44
7	+	+		+	-	+	02	0,099
8	+	+		-	+	+	02	0,099
9	-	?	?	?	?	?	1779	0,882

^{*a} = 1ech Ac anti-HBc douteux, AgHBs positif ; ^{*b} = 2 ech Ac anti-HBc douteux, Ac anti-HBs positif ;
^{*c} = 1ech AgHBs douteux, ^{*d} = 1ech Ac anti-HBe douteux ; ^{*e} = 1ech Ac anti-HBe douteux, AgHBs négatif.

NB : ech = échantillon

Conformément à l'algorithme de dépistage, 9 profils sérologiques se dégagent de cette étude. Les profils les plus représentatifs dans notre population d'étude par ordre décroissant sont : profil 2 (5,40%), profil 1(3,52%), profil 4 (1,54).

Le profil 1 : "Ac anti-HBc isolé" implique que les participants ont été en contact avec le VHB

Le profil 2 : profil signifie une hépatite B ancienne (guérie)

Le profil 3 : profil caractérisant le portage chronique de l'AgHBs

Le profil 4 : Hépatite B chronique avec réplication virale

Le profil 5 : Hépatite B chronique avec une réactivation de l'Ag-HBe ou étape séroconversion en cours.

Le profil 6 : Hépatite B chronique avec une séroconversion ou à mutant précore

Le profil 7 : Hépatite B aiguë en phase d'état

Le profil 8 : Hépatite B aiguë en phase de convalescence.

Tableau IX : Distribution des différents profils en fonction du sexe

	profil						Masculin		Féminin	
	AcHBct	AgHBs	AcHBs	AgHBe	AcHBe	IgM	nombre	p	nombre	P
1	+	-	-	-	-	-	37	1,78	35	1,68
2	+	-	+				61	2,92	50	2,48
3	+	+		-	-	-	0	0	5	0,14
4	+	+		+	-	-	20	0,94	12	0,59
5	+	+		+	+	-	0	0	3	0,14
6	+	+		-	+	-	6	0,29	4	0,14
7	+	+		+	-	+	2	0,09	0	0
8	+	+		-		+	0	0	2	0,09
9	-	?	?	?	?	?	901	44,69	878	43,55

Les profils les plus représentatifs tant chez les enfants de sexe masculin que de sexe féminin comprennent par ordre décroissant : le profil 2 (2, 92% vs 2,48%), le profil 1 (1,78%vs 1,68%), le profil 3 (1,38%, 1,19%). La probabilité d'apparition des différents profils est indépendante du sexe.

VI.5.L'impact du vaccin sur le portage des différents marqueurs du VHB

Six cent soixante quinze (675) sur 2016 soit 33,49% des participants avaient reçu les trois doses de vaccin contre le VHB. Certains parmi eux avaient les marqueurs spécifiques du VHB (Ac anti-HBc totaux, l'AgHBs, l'AgHBe, les Ac anti-HBe).

L'algorithme ci-dessous illustre bien ces observations ou résultats.

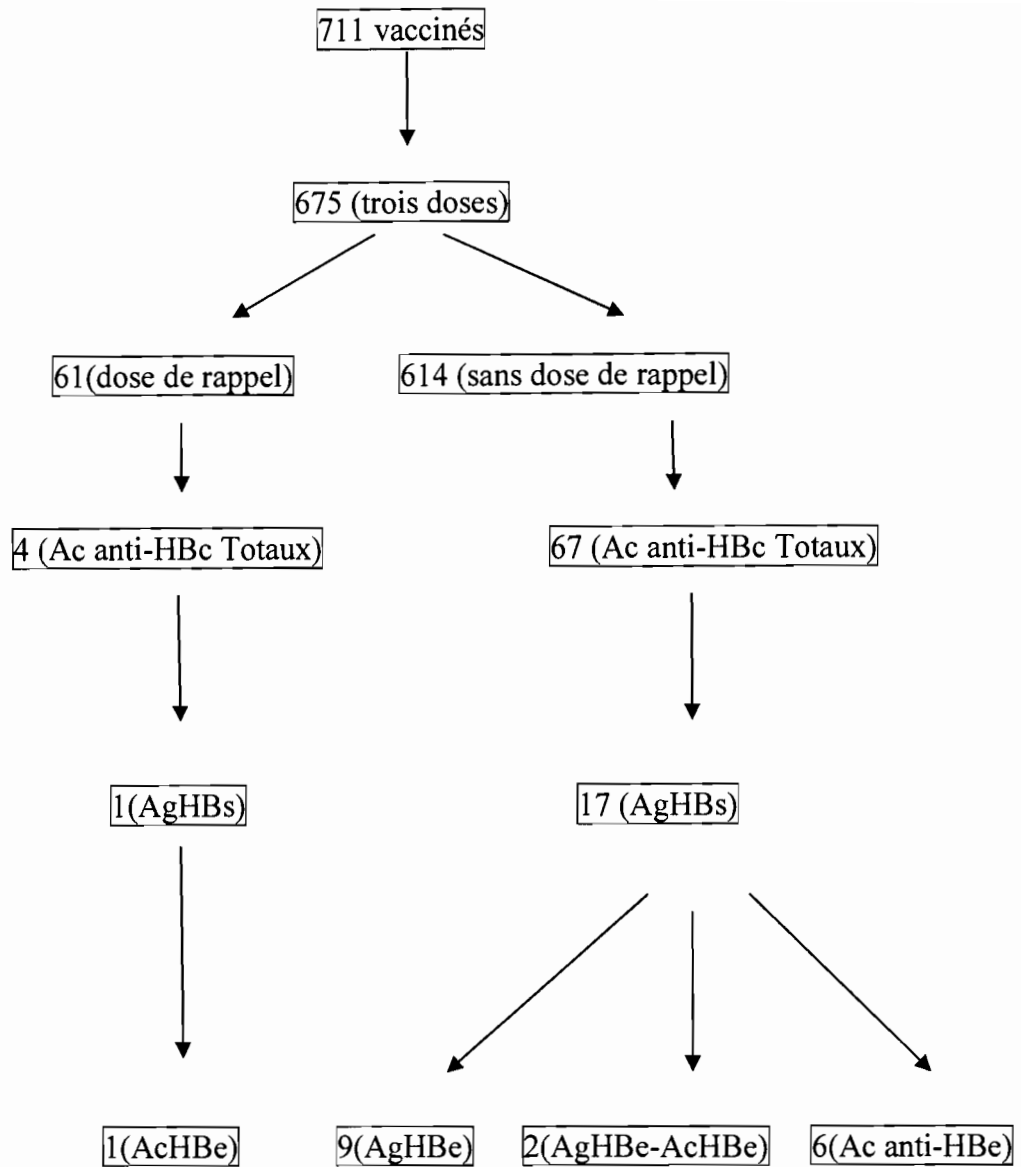


Figure 7 : Impact de la vaccination et le portage des marqueurs sérologiques du VHB chez les enfants

Sur les 675 enfants ayant reçu trois doses de vaccin :

Un (1) seul enfant avait reçu la dose de rappel et portait quand même l'AgHBs

17 enfants n'avaient pas reçu la dose de rappel et portaient l'AgHBs.

Tenant compte des trois doses de vaccin uniquement, les effectifs des enfants sont importants dans les tranches d'âges de] 84-96] et] 108-120].

En tenant compte ensuite des trois doses de vaccin plus la dose de rappel, seulement un enfant de la tranche d'âge de]108-120] (7 ans) est porteur de l'AgHBs selon le tableau suivant.

Tableau X : Distribution des prévalences de l'AgHBs chez les enfants ayant reçu les trois doses de vaccin et la dose de rappel par tranches d'âges.

	Tranches d'âges	Effectif Total	AgHBs Positif	Effectif ayant reçu 3doses	Effectif ayant reçu les 3doses et négatifs pour l'AgHBs	Effectif ayant reçu 3doses et positifs pour l'AgHBs	Effectif ayant reçu 3doses+ la dose de rappel	Effectif ayant reçu 3doses + la dose de rappel et négatifs pour l'AgHBs	Effectif ayant reçu 3doses + la dose de rappel et positif pour l'AgHBs
A	[0-12]	294	1	134	133	1	1	1	0
B] 12-24]	228	4	119	118	1	9	9	0
C] 24-36]	205	0	94	94	0	12	12	0
D] 36-48]	137	2	60	59	1	7	7	0
E] 48-60]	178	2	81	80	1	10	10	0
F] 60-72]	128	2	37	37	0	5	5	0
G] 72-84]	118	4	25	24	1	6	6	0
H] 84-96]	128	6	22	19	3	5	5	0
I] 96-108]	107	6	17	16	1	1	1	0
J] 108-120]	121	7	26	22	4	3	2	1
K] 120-132]	110	4	14	13	1	0	0	0
L] 132-144]	83	5	13	12	1	1	1	0
M] 144-156]	77	2	16	14	1	0	0	0
N] 156-168]	77	6	16	15	1	0	0	0
O] 168-180]	22	2	1	0	1	0	0	0
P] 180+	3	0	0	0	0	0	0	0
Total		2016	53	675	656	18	61	60	1

VII. Discussion

VII. 1. Les limites

Notre étude connaît quelques limites. En effet, nous avons fait les différents tests biologiques en fonction d'un algorithme qui avait été préétabli.

- Tous les enfants auraient pu être testés en Ac HBs. Cela nous aurait permis de :
 - ✓ Déterminer d'autres profils et d'avoir la situation réelle de la vaccination pendant la période d'enfance et d'adolescence à Bobo Dioulasso.
 - ✓ Faire un point intéressant sur la situation de la vaccination des enfants dans la localité de Bobo.
- L'absence des données sur le statut VIH des enfants ne nous permettra pas d'évaluer la prévalence de la coinfection VIH – VHB et son impact sur les profils d'infection par le VHB.
- L'absence des données sur le statut VIH des parents ne nous permettra pas d'évaluer l'effet des traitements administrés aux mères infectées par le VIH bénéficiaires du programme PTME VIH et co-infectées par le VHB, sur la transmission mère enfant du VHB.
- L'absence des mesures des ALAT ne donnera pas la possibilité de voir l'atteinte réelle du foie par l'infection virale B.
- L'absence des résultats de la recherche de l'ADN virale par la PCR ne nous permettra pas de confirmer ou d'infirmer certains profils sérologiques.

VII.2. Caractéristiques de la population d'étude à l'inclusion

2016 enfants dont 1027 enfants (50,94%) de sexe masculin et 989 enfants (49,05%) de sexe féminin, âgés de deux (2) semaines à 186 mois (2 semaines à 15,5ans). La majorité des enfants avaient un âge compris entre 1 mois à 2 ans. L'âge médian était de 58 mois \pm 48,82 et le sexe ratio était de 1,03.

Dans cette population d'étude, la proportion d'enfants ayant été vaccinés était plus élevée dans la tranche d'âge de moins de 7 ans. Cette observation pourrait se justifier par le coût élevé de 7 500F (CFA) pour la dose du vaccin qui n'est pas accessible à la majorité de la population dont 43,9% vit en dessous du seuil de pauvreté estimé à 108 454f CFA par mois (MS 2011). Une vaccination systématique au frais des parents serait alors difficilement envisageable dans ce contexte de dénuement sans une politique forte de santé tant au niveau national qu'international. L'intégration du vaccin contre le VHB dans le Programme Elargi de Vaccination (PEV) en 2006 au Burkina Faso a été suivie d'une sensibilisation de masse sur les réalités de cette infection longtemps méconnue et négligée par la population générale. Ainsi, les enfants nés à partir de 2006 ont donc bénéficié gratuitement du vaccin anti-VHB dans le PEV. Ce qui expliquerait que les enfants de moins de 7 ans soient les plus nombreux à avoir reçu le vaccin anti-VHB.

VII. 3. Dépistage sérologique suivant l'algorithme d'étude

Sur un total de 2016 enfants dépistés pour le VHB, 53 portaient l'AgHBs, marqueur sérologique de la présence du VHB dans l'organisme.

La prévalence des différents marqueurs sérologiques observés était estimée à : 11,56% pour les anticorps anti-HBc totaux ; 2,63% pour l'AgHBs ; 5,50% pour les anticorps anti-HBs ; 1,83% pour l'AgHBe ; 0,75% pour les anticorps anti-HBe et 0,19% pour les anticorps IgM anti-HBc. Seulement 4 enfants soit (7,40%) des 53 enfants portant l'AgHBs présentaient un profil aigu de l'hépatite B ; 37 enfants soit (68,51%) présentaient un profil d'une hépatite B chronique active. Quelques échantillons sont restés douteux malgré un second test dont 4 pour les Ac anti-HBc totaux; 1 pour l'AgHBs ; 2 pour les Ac anti-HBe. Sont dits douteux, les échantillons dont les densités optiques sont restées dans un intervalle où leurs valeurs n'ont pas pu atteindre la norme positive mais qui ont quand même dépassé la norme négative. Ces échantillons restés toujours douteux après deux tests consécutifs pourront être attribués à des problèmes techniques (des erreurs de pipetage, une contamination lors de l'aliquotage des sérums, lors des dépôts des sérums ou contrôles positifs dans les puits, pendant les lavages,

...). Dans de telles situations, la réalisation d'un second prélèvement permettrait de rendre un résultat définitif. Par conséquent, les échantillons douteux ont été considérés comme positifs pour la suite des analyses.

VII.4. La prévalence de l'AgHBs en fonction des tranches d'âges

L'AgHBs, principal marqueur sérologique reflétant la présence du virus de l'hépatite B dans l'organisme a été mise en évidence chez 53 enfants sur les 2016 soit une prévalence de 2,62%. Cette prévalence de l'AgHBs retrouvée chez les enfants à Bobo-Dioulasso dans le cadre de notre étude est inférieure à celle trouvée en 2000 dans la même localité par Nacro et son équipe chez des femmes enceintes en consultation prénatale estimées à 10,7% (49). Elle est également inférieure à 12,1% retrouvé par Pietra et son équipe en 2008 chez les adultes, comprenant le personnel du district sanitaire de Nanoro (50). De même, Ilboudo et ses collaborateurs ont trouvé dans une autre étude réalisée chez les femmes enceintes en consultation périnatale au centre médical Saint Camille de Ouagadougou une prévalence de l'AgHBs de 7,9% (51). Les infections bactériennes, ou parasitaires, survenant durant la grossesse pourraient de façon indirecte augmenter la réplication virale du VHB par l'intermédiaire de différentes cytokines. Dans de nombreux pays d'Afrique et d'Asie, les systèmes de soins sont peu performants suite aux moyens très limités mis à leur disposition. Ainsi, le suivi des femmes enceintes n'est pas régulier et en conséquence, plusieurs femmes au cours de leurs grossesses contractent des IST ou des mycoses génitales qui ne sont pas identifiées à temps et prises en charge. Ceci pourrait expliquer en partie (plus l'ignorance) le taux de transmission plus élevée du VHB observée dans les cohortes africaines. Les infections virales associées comme l'infection par le Cytomégalovirus (CMV), le Virus de l'Hépatite B (VHB), Virus T-lymphotropique humain (HTLV-1), Virus de l'herpès humain 6 (HHV-6), Virus de l'hépatite C (HCV) peuvent aussi être des cofacteurs à cette transmission (52).

Dans une autre étude réalisée en 2006 par Collemberg et ses collaborateurs dans la zone rurale à Nouna et dans la ville de Ouagadougou chez des femmes enceintes et des donneurs de sang, il a été observé respectivement des prévalences en AgHBs de 14,3% et 17,3% (53). A ce jour, il s'agit des prévalences les plus élevées observées au Burkina Faso. Par ailleurs, des prévalences en AgHBs de 3,1%, de 4,35% et de 3,1% ont été respectivement observées chez des enfants par Utsumi et son équipe en 2010 en Indonésie, Qamer et son équipe en 2004 en Inde et Melendez en 2012 à Mexico (Amérique) (54, 55,56).

Dans les pays développés comme la plupart des pays de l'Europe, la prévalence en AgHBs est ≤ 1 et les plus forts taux se situent entre 5 et 7% en général (57). Dans la population d'origine italienne, la prévalence de l'AgHBs était estimée à 1,5% en 2010 (58).

La prévalence en AgHBs était plus faible chez les enfants de moins de 5 ans ($\leq 0,19\%$), que chez les enfants de plus de 10 ans ($\geq 0,29$). Notons que le vaccin contre le VHB a été introduit dans le PEV en 2006 et que la plupart des enfants dans notre étude ont moins de 7 ans. L'introduction du vaccin contre le VHB explique certainement la faible prévalence dans cette tranche d'âge. Dans une étude réalisée chez les enfants et les adolescents hospitalisés à Zhejiang, Chen et ses collaborateurs ont noté qu'avec l'introduction du vaccin dans le PEV en 1992 en Chine, la prévalence de l'AgHBs avait baissé de 9,75% en 1992 à 7,18% en 2006 aussi bien dans cette population que dans la population générale de Chine (59).

VII.5. Identification et description des différents profils observés

Dans notre étude et conformément à l'algorithme utilisé pour le diagnostic sérologique, 8 profils sérologiques ont été identifiés.

Le profil 1 « Ac anti-HBc isolé » retrouvé chez 3,52% des participants est autant présent chez les garçons que chez les filles. L'antiHBc isolé (la présence des Ac anti-HBc totaux isolés dans le sang) peut correspondre à quatre situations. Premièrement, on peut constater ce profil durant la période de latence sérologique de l'infection aiguë à VHB, ce sont surtout des anticorps de types IgM. Deuxièmement, ce profil peut être observé plusieurs années après la guérison de l'hépatite B alors que les antiHBs sont devenu indétectable (60). Cependant il n'a pas été prouvé que le foie subisse une grande souffrance lorsque ce profil est observé chez un patient (61). Troisièmement, ce profil peut être observé dans le cas d'une hépatite chronique B occulte lorsque les titres d'AgHBs ont diminué sous le seuil détectable (62). En 2011 Chen et ses collaborateurs ont également retrouvé ce profil dans leur étude à une proportion de 0,85% qui selon eux, signifierait une probable infection active.

Le profil 2 observé à 5,35% dans la population soit 1,72% chez les garçons et 1,73% chez les filles, évoque une hépatite B guérie, ancienne. En 2014, Livia et son équipe ont retrouvé ce profil dans leur étude à une prévalence de 1,2%. Ils suggèrent une guérison due probablement par l'élimination du virus de façon naturelle ou lors d'une prise en charge thérapeutique d'un ictère causé par une hépatite B aiguë méconnue (63).

Les profils 3 ; 4 ; 5 ; et 6 sont typiques de l'hépatite B chronique observée à une proportion moyenne de 2,26%. Les profils 3 et 4 caractérisent une hépatite B chronique active. Ils sont observés à des pourcentages respectifs de 0,14 et 1,54.

Le profil 4 est une hépatite B active répliquative. La positivité de l'AgHBe caractérise cette répllication.

Le profil 5, où l'on observe l'AgHBe et les Ac anti-HBe de façon simultanée est un profil rare en pratique courante. Ce profil est observé à une prévalence de 0,14%. Pendant la séroconversion de l'AgHBe en Ac anti-HBe, une reprise de la répllication virale peut survenir: la réactivation. Elle indique le début d'une nouvelle répllication virale. Elle peut être spontanée, due à un problème d'immunosuppression. En effet, des causes pathologiques de déficience immunitaire primitive ou acquise (par exemple : l'infection à VIH) peuvent être à l'origine de l'incapacité de l'organisme à éliminer le VHB. Les AgHBe persistent alors et s'en suit une reprise de l'infection active pouvant conduire très rapidement à une cirrhose (64). La déficience immunitaire peut être d'origine iatrogène (médicamenteuse), lors de chimiothérapie, de greffe d'organes, la prise de médicament contenant des corticoïdes ou aux Ac monoclonaux. Il a été observé que le traitement par les antirétroviraux lors de la co-infection par le VIH provoquait une réactivation virale B. Et qu'en général, chez le sujet immuno-compétant la séroconversion AgHBe en AcHBe se fait efficacement et l'AgHBe laisse complètement la place aux anti-HBe (65)

Le profil 6 caractérise une hépatite B chronique observé chez 0,44% des enfants pouvant s'expliquer par deux situations possibles. La première situation, une séroconversion de l'AgHBe en Ac anti-HBe marquant la fin de la répllication. Selon une étude menée en 1994 par Gary et ses collaborateurs, la présence des antigènes viraux à la surface des cellules hépatiques lors de la répllication virale serait à l'origine de l'alerte lancée à l'organisme pour se défendre (66). Alors on parlera de séroconversion si cette mission de défense est assurée et que les AgHBe ont disparu au profit des Ac anti-HBe. La deuxième situation est qu'il peut s'agir d'une infection par un mutant pre-core. Dans ce cas, on note aussi une absence de l'AgHBe avec une présence ou pas de l'Ac anti-HBe mais la recherche de l'ADN indique une élévation de la répllication virale. Ce deuxième cas conduit à une infection de longue durée avec une fréquence de cirrhoses élevée. Cependant la sévérité de l'infection n'a pas été prouvée (67).

Les profils 7 et 8 signifient une hépatite B aiguë. Ces deux profils sont observés dans notre étude chez 4 enfants à des proportions égales et estimées à 0,09% pour chacun des deux profils. Seulement 4 enfants soit 7,40% des enfants portant l'AgHBs présentaient une hépatite B aiguë. L'infection B aiguë est présente dans notre population totale d'étude à une prévalence de 0,19%. L'infection à VHB passe très rapidement à la chronicité surtout quand l'infection est acquise dans l'enfance. L'âge au moment de l'infection constitue donc un grand facteur de risque pour le passage à la chronicité.

VII.6. Evaluation de l'impact de la vaccination

Quand à l'impact de la vaccination, 33,48% de la population avaient reçu au moins 3 doses de vaccin. Les Ac anti-HBs issus de la vaccination devraient protéger contre l'infection par le VHB. Cependant, parmi les enfants qui ont reçu les trois doses (675), sur les 711 enfants vaccinés, 18 soit (2,66) avaient l'AgHBs positif et 11 avaient AgHBe. Quelles hypothèses pourraient expliquer cette présence simultanée de marqueurs d'infection du VHB chez les enfants ayant été vaccinés? En 2011, Chen et ses collaborateurs dans leur étude réalisée chez les enfants et les adolescents hospitalisés à Zhejiang en Chine avaient fait les mêmes observations. Ils ont émis une première hypothèse selon laquelle, les AgHBe retrouvés seraient ceux de la mère infectée, en réplication du virus (59). Les AgHBe étant capables de traverser la membrane placentaire (5). Comme deuxième hypothèse, ils ont suggéré des erreurs techniques lors des analyses biologiques. Il s'agirait donc de faux positifs survenus par contamination de cônes lors de dépôt des échantillons ou par le mécanisme de lavage.

Concernant notre étude, et dans notre contexte, nous suggérons une première hypothèse selon laquelle, les enfants auraient reçu le vaccin à tort. En effet, au cours de la collecte des données, conformément aux informations consignées sur les carnets de vaccination certains enfants avaient reçu le vaccin bien plus tard ; 2,3 et 4 ans après leur naissance. Nous pensons donc que ces enfants auraient été préalablement en contact avec le virus lors d'une infection acquise par voie verticale ou parentérale. Sans dépistage préalable ils auraient donc reçu le vaccin suivant le programme. Cela pourrait expliquer la présence des marqueurs d'infection (AgHBs) malgré le vaccin. Autrement dit, nous pensons que " le vaccin est venu trouver l'infection déjà existante " Ces enfants seraient déjà porteur du virus lors de leur vaccination. Ensuite comme deuxième hypothèse, nous pensons que cela pourrait être dû à une mauvaise réponse vaccinale. Enfin, ce type de profil peut être aussi le fait d'une mutation

d'échappement ou mutation au niveau du gène S, apparaissant lors de traitement préventif de la transmission mère-enfant du VIH ou des campagnes de vaccination de masse (68).

Cependant, nous avons noté qu'il existait une corrélation positive entre le fait d'avoir reçu les trois doses de vaccin ou le fait d'avoir reçu la dose de rappel en plus des trois doses de vaccin et celui d'être négatif pour l'AgHBs ($r=0,99$ soit 1). L'interprétation de ces résultats nous amène donc à confirmer l'hypothèse selon laquelle la vaccination contre le VHB a un effet protecteur. Dans la population d'enfants porteurs de l'AgHBs ($n=53$), en comparant la proportion des enfants ayant reçu les trois doses de vaccin et porteurs de l'AgHBs ($n=18$) à la proportion des enfants qui ont reçu la dose de rappel en plus des trois doses et porteurs de l'AgHBs ($n=1$), nous observons que cette protection est considérable avec l'administration de la dose de rappel ($0,01 < 0,33$). En effet la dose de rappel vient booster l'immunité de l'organisme qui reste active vis-à-vis du virus. Une étude similaire faite par Ni YH à Taiwan a montré que la prévalence de l'AgHBs dans le groupe d'enfants nés après l'introduction du vaccin dans le PEV dans cette ville avait baissé de 9,8% en 1984 à 0,7% en 1999 ; tandis que la prévalence de l'AgHBs retrouvé dans le groupe d'enfants nés avant l'année de l'introduction du vaccin (1984) dans le programme était de 7%. (71)

CONCLUSION

Les résultats de cette étude, la première au Burkina Faso nous a permis de décrire les différents profils sérologiques liés au VHB chez les enfants. Il s'agit des mêmes profils retrouvés dans la population adulte. Huit profils sérologiques ont été observés chez des enfants de 0 à 16 ans et ces profils se retrouvent autant chez les garçons que chez les filles. La chronicité s'installe très rapidement à l'enfance. Il est donc important d'évaluer l'état du foie des enfants par le dosage de l'ALAT dès l'établissement du profil sérologique de l'infection et suivre l'évolution de l'inflammation car ils peuvent développer à long terme une cirrhose et/ou un cancer de foie. Des tests sanguins et une biopsie hépatique doivent être faits afin de savoir si un traitement doit être initié immédiatement ou s'il peut être retardé. Aussi, il est capital de renforcer la couverture vaccinale et mettre un accent particulier sur le dépistage des femmes enceintes afin d'annihiler la transmission mère enfant du VHB.

SUGGESTIONS

Au ministère de la santé, nous leur demandons de :

- ✓ Sensibiliser la population sur le vaccin contre le VHB et plus précisément les femmes enceintes qui doivent obligatoirement recevoir le vaccin au deuxième trimestre de grossesse.
- ✓ Renforcer de façon efficace la prise en charge des enfants présentant une hépatite B chronique. Cela pourrait empêcher la survenue d'une cirrhose ou d'un cancer.
- ✓ Travailler à accroître la couverture vaccinale contre le VHB qui est à ce jour loin de l'objectif de 90% au niveau national, avec au moins 80% de couverture dans chaque district sanitaire suivant les recommandations de l'OMS adopté dans la résolution 45.17 de l'Assemblée Mondiale de la Santé (WHA 45.17) en 1992 pour tout état membre .
- ✓ Renforcer la communication sur l'administration de la dose de rappel qui est un gage d'une immunité efficace et durable

Aux personnels de santé

- ✓ Faire le contrôle du titre d'anticorps chez les enfants exposés au virus et les enfants immunodéprimés, après la vaccination pour s'assurer que la dose administrée offre toujours une bonne protection à la personne vaccinée.
- ✓ Répéter le dosage des Ac anti-HBc totaux, des AgHBs et des Ac anti-HBs chez une personne présentant un profil du type : Ac anti-HBc isolés. Lorsque cette situation persiste, il faut vérifier la présence des IgM anti-HBc et l'ADN-VHB par PCR afin d'exclure respectivement les cas d'infections récentes et occultes.
- ✓ S'assurer par des tests moléculaires qu'une mutation pre-core ou de type S n'est pas à l'origine d'une reprise de l'activité virale.

A la communauté scientifique

- ✓ Mettre en place des vastes projets de recherche sur le VHB

- ✓ Organise des conférences sur des thèmes en rapport avec le VHB
- ✓ Mettre en place des groupements d'intérêt public (GIP comme l'ANRS) et des ONG de lutte contre le VHB.

A la communauté

- ✓ Exiger le dépistage chez les femmes notamment pendant la grossesse
- ✓ Faire vacciner les enfants, si possible dès la naissance
- ✓ Vulgariser les connaissances sur la maladie par les malades.

A decorative border resembling a scroll, with a light gray background. The border is black and has a rounded, scroll-like shape on the left and right sides. The text is centered within this border.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références

3. Lavanchy D : Worldwide epidemiology of HBV infection, disease burden, and vaccine prevention . J.Clin Virol 2005
4. Ranger-Rogez S, Alain S, Denis F : Virus des hépatites : transmission mère-enfant. Pathol Biol 2002;5 0: 568–75.
5. Xu De-Zhong¹ Yong-Ping Yan¹, Bernard C.K. Choi², Jian-Qiu Xu³, Ke Men¹, Jing-Xia Zhang¹, Zhi-Hua Liu¹ and Fu-Sheng Wang¹ : “Risk factors and mechanism of transplacental transmission of hepatitis B virus: a case control study,” J Med Virol, vol. 67, no. 1, pp. 20– 26, Mars 2002.
6. Leung Nancy : “Chronic hepatitis B in Asian women of childbearing age,” Hepatology International, vol. 3, supplement 1, pp. 24–31.
7. Soderstrom A, Norkrans G, Lindth : Hepatitis B virus DNA during pregnancy and post partum: aspects on vertical transmission. Scand J Infect Dis 2003; 35: 814- 9.
8. Bortolotti Flavia : Treatment of chronic hepatitis B in children. J Hepatol 2003;39 Suppl. 1:S200-205.
12. Burnett RJ, François G, Kew MC, Leroux-Roels G, Meheus A, Hoosen AA, Mphahlele MJ . Hepatitis B virus and human immunodeficiency virus coinfection in sub-Saharan Africa: a call for further investigation. Liver International 2005: 25: 201–213.
13. Wester CW, Bussmann H, Moyo S, Avalos A, Gaolathe T, Ndwapi N, et al Serological evidence of HIV-associated infection among HIV-1-infected adults in Botswana. Clin Infect Dis 2006; 43:1612–5.
14. Hoffmann CJ, Thio CL: Clinical implications of HIV and hepatitis B co-infection in Asia and Arica. Lancet Infect Dis 2007; 7:402–409.
15. Josephine Bwogi,¹ Fiona Braka,² Issa Makumbi,³ Vinod Mishra,⁴ Barnabas Bakamutumaho,¹ Miriam Nanyunja,² Alex Opiyo,⁵ Robert Downing,⁶ Benon

Biryahwaho,⁷ and Rosamund F Lewis²: Hepatitis B infection is highly endemic in Uganda: findings from a national serosurvey. *Afr Health Sci.* 2009 Jun; 9(2): 98–108.

17. Gerlich W. H. : Medical Virology of Hepatitis B: how it began and where we are now; *Virology Journal* 2013, 10:239 <http://www.virologyj.com/content/10/1/239>

18. Havens, W.P. Jr. : period of infectivity of patients with experimentally induced infectious hepatitis ; *J Exp Med* v.83(3); 1946 Feb 28 PMC 2135582.

19. MacCallum, F.O., Bradley, W.H.: Transmission of infective hepatitis to human volunteers. *Lancet.* 1944; 2:228.

20. MacCullum F : Homologous serum hepatitis. *Lancet* **2**: 691-692

21. Neefe, J.R., Stokes, J. Jr., Reinhold, J.G. : Oral administration to volunteers of feces from patients with homologous serum hepatitis and infectious (epidemic) hepatitis. *Amer. J. Med. Sci.*; 210:29.

22. Paul JR HJW, Sabin AB, and Philip CB: Transmission experiments in serum jaundice and infectious hepatitis. *JAMA* **128**: 911-915

23. Blumberg BS, Alter HJ, Visnich S: A "new" antigen in leukemia sera. *JAMA* 191: 541-546

24. Blumberg BS : Australia antigen and the biology of hepatitis B. *Science* 1977 (4298):17-25

25. Dane, D.S., Cameron, C.H., Briggs, M. Virus-like particles in serum of patients with Australia-antigen-associated hepatitis. *Lancet.* 1970;1: 695

26. Maupas P, Goudeau A, Coursaget P, Drucker J, Bagros P : Immunisation against hepatitis B in man. *Lancet* 1(7974):1367-1370.

28. Blumberg BS : The discovery of the hepatitis B virus and the invention of the vaccine: a scientific memoir. *J Gastroenterol Hepatol* 17 Suppl: S502-503

30. Schaefer St ephan: Hepatitis B virus taxonomy and hepatitis B virus genotypes ; World J Gastroenterol. 2007 Jan 7; 13(1): 14–21
31. Summers, J., Smolec, J. M. & Snyder, R.: A virus similar to human hepatitis B virus associated with hepatitis and hepatoma in woodchucks. Proc Natl Acad Sci U S A, 75, 45337.
33. Dr. M. Segondy, Hépatites Virales-Diagnostic et suivi biologique des hépatites virales novembre 2004, Module de base Microbiologie pharmaceutiques et biologique de LILLE, 2013.
34. Seeger Christoph and William S. Mason :Hepatitis B Virus Biology Microbiol Mol Biol Rev. 2000 Mar; 64(1): 51–68.
36. Diendéré EA, Tiéno H, Bognounou R, Ouédraogo DD1, Simporé J,Ouédraogo/Traoré R: Prévalences et facteurs associés aux infections à Virus de l’Immunodéficience Humaine et virus de l’hépatite B, à la syphilis et à la tuberculose pulmonaire bacillifère en milieu carcéral au Burkina Faso Med Trop 2011 ; 71 : 464-467
37. Maier I, WU G, : Hepatitis and HIV co-infection a review world J Gastro-enterology 2002, 8:577-579 <http://www.biomedcentral.com/1756-0500/6/363>.
39. Beasley PR, Shiao I-S, Stevens CE, Meng H-C : Evidence against breastfeeding as a mechanism for vertical transmission of Hepatitis B, Lancet 1975;ii:740-41.
42. Milich David R.t, Joyce E. Jones, Janice L., Hughes Jennifer Prices, Anneke K. Raney and Alan Mclachlan : Is a function of the secreted hepatitis B e antigen to induce immunologic tolerance in utero? Proc. Natl. Acad. Sci. USA. vol. 87, pp. 6599-6603,immunology, September 1990.
43. Iannacone M, Sita G, Ruggeri ZM, Guidotti LG, : HBV pathogenesis in animal models :recent advances on the role of platelets J Hepatol.vol 46 n 4 2007 p719-26.
49. Nacro B., Dao B., Dahourou H., Hien F., Charpentier-Gautier L., Meda N.Van de Perre Ph.,Cartoux M., Mandelbrot L., Dabis F.,(2000) : Portage de l’antigène HBs chez

les femmes enceintes à Bobo-Dioulasso (Burkina-Faso. *Dakar Medical* 2000, 45, 188-190.

50. Pietra V., D. Kiema, D. Sorgho, S.-P. C. G. Kabore, S. Mande, F. Castelli, M. Puoti, J. Simpure : Prévalence des marqueurs du virus de l'hépatite B et des anticorps contre le virus de l'hépatite C parmi le personnel du District Sanitaire de Nanoro, Burkina Faso. *Science and Technology, Science Santé*, vol. 31, no. 1-2, 2008.

51. Ilboudo D., Karou D., Nadembega W.M., Savadogo A., Djeneba O., Pignatelli S., Pietra V., Bere A., Simpure J., Traore A.S. Prevalence of human herpes virus-8 and hepatitis B virus among HIV seropositive pregnant women enrolled in the Mother-to-Child HIV Transmission Prevention Program at Saint Camille Medical Centre in Burkina Faso. *Pak J Biol Sci.* Sep 1;10(17):2831-7.

52. Delfraissy JF1: Perinatal HIV transmission. The mechanisms and preventive measures. *Pneumoftiziologia.* 1996 Jul-Dec; 45(3-4):155-64.

53. Collenberg E., Ouedraogo T., Ganamé J., Fickenscher h., Kynast-wolf G., Becher H., Kouyaté b., Kräusslich h.G., Sangaré l., Tebit d.m., 2006. Seroprevalence of six different viruses among pregnant women and blood donors in rural and urban Burkina Faso: A comparative analysis. *J Med Virol.* May;78(5):683-92.

54. Utsumi, Takaka Yoshihiko Yano, Maria Inge Lusida, Mochamad Amin, Soetjipto, Hak Hotta, and Yoshitake Hayashi (2010) : Serologic and molecular characteristics of hepatitis b virus among school children in east java, Indonesia 2010. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 83(1), 2010, pp. 189–193.

55. Qamer, Sheeba T. Shahab, S. Alam, A. Malik, and K. Afzal, : “Age specific prevalence of hepatitis B surface antigen in pediatric population of Aligarh, North India,” *Indian Journal of Pediatrics*, vol. 71, no. 11, pp. 965–967, 2004.

56. Melendez G. Escobedo, N. A. Fierro, S. Roman, M. Maldonado-González, E. Zepeda-Carrillo, and A. Panduro, : “Prevalence of hepatitis A, B and C serological markers in children from western Mexico,” *Annals of Hepatol*, vol. 11, no. 2, pp. 194–201, 2012.

57. Marcellin Patrick: Hepatitis B and hepatitis C in 2009. Service d'Hépatologie, AP-HP and INSERM U773, Centre de Recherche Biologique Bichat-Beaujon CRB3, Université Denis Diderot-Paris 7, Hôpital Beaujon, Clichy, France. *Liver International*; 29(s1): 1–8.
58. Tafuri Silvio, Rosa Prato, Domenico Martinelli, Livio Melpignano, Maria De Palma¹, Michele Quarto¹ and Cinzia Germinario: Prevalence of Hepatitis B, C, HIV and syphilis markers among refugees in Bari, Italy. *BMC Infectious Diseases* 2010.
59. Chen Xuejun, Yuefang Shen†, and Wending Xiang : Distribution Characteristics of Hepatitis B Serological Markers in Hospitalized Children and Adolescents in Zhejiang, China between 2006 and 2010. *Gut Liver*. 2011 Jun;5(2):210-6. Epub 2011 Jun 23.
60. Maruyama T, Schödel F, Lino S et coll. Distinguishing between acute and symptomatic chronic hepatitis B virus infection. *Gastro enterology* 1994; 106, (4):1006, 15.
61. Knöll Antje, Arndt Hartmann, Harald Hamoshi, Karin Weislmaier, and Wolfgang Jilg: Serological pattern “anti-HBc alone”: Characterization of 552 individuals and clinical significance. *World J Gastroenterol* 2006; 12(8): 1255-1260
62. Hoofnagle J.H, Seeff LB, Bales ZB, Zimmerman HJ : Type B hepatitis after transfusion with bloodcontaining antibody to hepatitis B core antigen. *N Engl J Med* 1978, 298:1379-1383.
63. Livia Melo Villar, Luciane Almeida Amado, Adilson José de Almeida,¹Vanessa Salette de Paula, Lia Laura Lewis-Ximenez, and Elisabeth Lampe :Low Prevalence of Hepatitis B and C Virus Markers among children and Adolescents Hind Pub Corp. *BioMed Research Intern* juillet 2014.
65. François Rouet , Marie-Laure Chaix, Andre Inwoley, Marie-France Anaky , Patricia Fassinou, Alphonse Kpozehouen, Christine Rouzioux, Stephan Blanche, and Philippe Msellati : Frequent Occurrence of Chronic Hepatitis B Virus Infection among West African HIV Type-1–Infected Children (Agence Nationale de Recherches sur le SIDA et les Hépatites Virales B et C 1244/1278).*Clin Inf Diseases* 2008; 46:361–6.

66. Gary L. Davis, Jay H. Hoofnagle : Spontaneous Reactivation of Chronic Hepatitis B Virus Infection ; Gastro-entérolology, fevrier 1994.
67. Chan HL, Hussain M, Lok AS. Different hepatitis B virus genotypes are associated with different mutations in the core promoter and precore regions during hepatitis B e antigen seroconversion. *Hepatology* 1999; 29:976-84.
68. Coleman PF : Detecting hepatitis B surface antigen mutants. *Emerg Infect Dis* 2006, 12:198-203.
69. Senior JR, Sutnick AI, Goeser E, London WT, Dahlke MB, Blumberg BS: Reduction of post-transfusion hepatitis by exclusion of Australia antigen from donor blood in an urban public hospital. *Am J Med Sci* 267(3): 171-177?
70. Don Ganem, M.D., and Alfred M. Prince, M.D Hepatitis B Virus Infection ; natural History and Clinical Consequences, *N Engl J Med* 2004; 350:1118-29.
71. Ni YH, Chang MH, Huang LM, Chen HL, Hsu HY, Chiu TY, Tsai KS, Chen DS : Hepatitis B virus infection in children and adolescents in a hyperendemic area: 15 years after mass hepatitis B vaccination. *Ann Intern Med.* 2001 Nov 6;135(9):796-800.

Webographie

1. Vaubourdolle Michel : Infectiologie ed Wolters kluwer parule : 09/2013 (4ème édition, Collection : Le Moniteur internat 3.
2. OMS : Organisation mondiale de la santé, les hépatites WHA67.6, 24 Mai 2014.
9. D'Ercole Claude : Prévention des risques fœtaux (20) ; Maladies infectieuses de la grossesse. <<http://www.sfmp.net> > Octobre 2005

10. ANAES : Agence Nationale d'Accréditation et d'Évaluation en Santé: Service Communication et Diffusion 159, rue Nationale 75640 Paris Cedex 13 – Tél. : 01 42 16 72 72 Fax : 01 42 16 73 73.

11. OMS : Hépatite B Aide-mémoire N°204 Mars 2015.

16. OMS: Weekly epidemiological record; Relevé épidémiologique hebdomadaire , 77th year 8 février 2002, 77e année No. 6, 2002, 77, 41–48 ; <http://www.who.int/wer>

27. Denis F , A. Goudeau , A. Aufrère : couverture vaccinale contre l'hépatite B en France.

29. Hureau Jean Marie. Université pierre et marie curie .Virologie niveau dcem1 ; 2006-2007.

32. Goffard Anne ; université lille 2 droit et santé ; faculté des sciences pharmaceutiques et biologiques de lille (2013) : Infection par le virus de l'Hépatite B.

35. Bekondi C. Aspects cliniques et épidémiologiques des infections à virus de l'hépatite B en république centre africaine- thèse janvier 2008, p.28.

38. Lefrère JJ : Les virus transmissibles par le sang. Editions John Libbey Eurotext, 1996.

40. Dr Ripault, Dr Buisson Valles, Dr Sobaszek , DR Kornabis, Dr Touche, Dr Gehanno , Dr Rysanek, Virus de l'hépatite b chu de Rouen, page 3.

41. WGO : World Gastroenterology Organisation : Hépatite B septembre 2008

44. Dr Jean-Dominique Poveda : Hépatite virale B Données épidémiologiques. Laboratoire pasteur cerba ; Tunis Février 2008.

45. Denis F , : Vaccination contre l'hépatite B, EMC Hepatology, 7-015-B-32, 2012

46. BEH : Recommandation vaccinales, no 16-17; 20 Avril 2009.

<http://www.invs.sante.fr/>

47. Guide des vaccinations .Edition 2012 < [http://www. Inpes.santé.fr](http://www.Inpes.santé.fr)>

48. Siegrist Claire Anne : Protection vaccinale contre l'hépatite B : la durée de protection est elle suffisante pour envisager de vacciner des nourrissons ? Paediatrica vol. 12, no. 2 2001.

64. Hoofnagle J.H : reactivation of hepatitis B.Hepatology May 2009.

Annexes

Test ELISA

- Pour la réalisation des différents tests, nous avons utilisé :
- Eau distillée.
- Eau de javel.
- Papier absorbant.
- Gants à usage unique.
- Tubes polystyrène (12 x 75 mm) à usage unique.
- Pipettes automatiques ou semi-automatiques réglables ou fixes pouvant distribuer 50µl, 100µl, 200 µl et 1 ml
- Éprouvettes graduées de 10 ml, 50 ml, 100 ml, 1000 ml
- Agitateur type vortex
- Papier aluminium
- Film adhésif
- Conteneur de déchets contaminés
- Système de lavage automatique pour microplaque
- Incubateur sec, thermostaté à $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$
- Appareil de lecture pour microplaques, équipé de filtres de 450 et 620 nm
- Les prélèvements sont contenus dans des cryotubes gardés au congélateur à $- 80^{\circ}\text{C}$

Test Monolisa Anti HBc

Principe du test Monolisa Anti-HBc

Monolisa™ anti-HBc PLUS est un dosage immunoenzymatique (ELISA de type indirect) pour la détection simultanée des anticorps totaux dirigés contre le virus de l'hépatite B dans le sérum ou le plasma humain.

Monolisa anti-HBc™ PLUS est basée sur l'utilisation d'une phase solide préparée avec des AgHBc recombinant.

Étapes de la manipulation:

1. Les sérums à tester et les sérums de contrôle sont déposés dans les puits. Si des anticorps HBc sont présents, ils se lient aux antigènes immobilisés de la phase solide.
2. Après une étape de lavage, les anticorps marqués à la peroxydase de l'IgG humaine et IgM sont ajoutés. Ils vont se lier à leur tour aux anticorps spécifiques capturés sur la phase solide.
3. Après élimination du conjugué enzymatique non lié, le complexe antigène-anticorps est révélé par ajout du substrat.
4. Après arrêt de la réaction, les valeurs d'absorbance sont lues à l'aide d'un spectrophotomètre à 450/620-700 nm. L'absorption mesurée pour un échantillon permet d'observer la présence ou l'absence d'anticorps anti-HBc. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité d'anticorps anti-HBc liés à la phase solide.

Protocole

- 1) Etablir le plan de distribution des échantillons, et identifier les échantillons à déposer, de sorte que chaque cupule de la microplaque corresponde à un seul échantillon.
- 2) Préparer le tampon de lavage en diluant 50ml de la solution de travail R2 et 950ml d'eau distillée, pour 1 litre de solution de lavage.
- 3) Préparer soigneusement la microplaque
- 4) On dépose directement dans les cupules de la microplaque, et sans lavage de la plaque:
 - 4.1 200 µl du diluant (R6) dans chaque puits
 - 4.2 20 µl du contrôle négatif (R3) dans A1, B1
 - 20 µl du contrôle positif (R4) dans C1, D1, E1
 - 20 µl du premier échantillon en F1 si ce puits n'est pas utilisé pour un contrôle.

20 µl du second échantillon en G1, etc.

Ensuite, homogénéiser le mélange par aspiration et reflux ou agiter la microplaque pendant 5 secondes. Si la distribution d'échantillons dépasse 10 mn, il est recommandé de déposer les contrôles après les échantillons.

Selon le système utilisé, vous pouvez changer la position ou l'ordre de la distribution de contrôles.

Après le dépôt des échantillons on remarque que le conjugué de coloration violette au départ, passe au bleu. Cela permet donc de vérifier la présence des échantillons dans les puits.

5) On couvre la microplaque avec un film adhésif sur toute sa surface en s'assurant de son étanchéité.

6) Mettre à incuber dans un incubateur de microplaque pendant $30 \text{ min} \pm 5 \text{ min}$ à $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$

7), Ensuite retirer le film adhésif, aspirer le contenu des puits et ajouter la solution de lavage. Le lavage est répété au moins 4 fois. Le volume résiduel de solution de lavage qui n'a pas pu être aspiré est éliminé par tapage de la microplaque.

8) Déposer rapidement, après agitation 200 µl de la solution de conjugué 2 (R7) dans tous les puits, recouvrir avec un film adhésif et incuber pendant: $60 \pm 5 \text{ minutes}$ à $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$. Le conjugué est de couleur verdâtre.

9) Après l'incubation, retirer le film adhésif et vider tous les puits par aspiration et procéder à une étape de lavage : 4 fois comme décrit ci-dessus.

10) Préparer la solution de révélation (R8 + R9).

11) Distribuer rapidement 100 µl de la solution enzymatique de révélation (R8 + R9) préparé à l'avance. Recouvrir cette préparation avec du papier aluminium. Ensuite, laisser incuber à l'obscurité pendant $30 \pm 5 \text{ minutes}$ à température ambiante (18 à 30°C). Après l'incubation, on remarque que la solution de révélation qui avait une coloration rose, vire au bleu dans les puits où il y'a eu une activité enzymatique. A ce stade on peut nettement distinguer les puits à échantillons positifs de coloration bleue des puits à échantillon négatifs rose.

12) ajouter 100 µl de solution d'arrêt (R10) de coloration incolore. A ce stade également on fait la différence entre les puits positifs de couleur jaune et les puits négatifs de couleur incolore.

13) Attendre au moins 4 minutes après la distribution de la solution d'arrêt, et dans les 30 minutes qui suivent l'arrêt de la réaction, lire au spectrophotomètre la densité optique à 450/620 à 700 nm.

14) Avant la transcription des résultats on vérifie la corrélation entre la lecture

du plan de distribution de la microplaque et l'identification des échantillons.

Remarque : Il est essentiel de respecter les procédures de lavage pour obtenir de bons rendements. Pour certains instruments, il peut être nécessaire d'augmenter le nombre de cycles de lavage pour atteindre une élimination acceptable de bruit de fond.

Validation du test

Chaque valeur d'absorbance négative doit respecter la validation :

$$DOR3 \leq 0,100$$

Chaque valeur d'absorbance positive doit être tel que

$$1,00 \leq DOR4 \leq 2,900$$

Si l'un de la valeur de contrôle positif est hors de ces normes ou diffère de plus de 30% de la valeur moyenne, effectuer le calcul à nouveau avec les deux autres valeurs des contrôles positifs. Le test doit être répété si plus d'une valeur de contrôle positif est en dehors des limites fixées ci-dessus

Test Monolisa Ag-HBs:

- Principe du test Monolisa™ HBs Ag ULTRA

Monolisa™ HBs Ag ULTRA est une technique immunoenzymatique de type "sandwich" utilisant des anticorps monoclonaux et des anticorps polyclonaux sélectionnés pour leur capacité à se lier aux différents sous-types de l'Ag HBs actuellement reconnus par l'OMS et la plupart des souches variantes de l'hépatite B. La phase solide de Monolisa™ HBs Ag ULTRA est sensibilisée avec des anticorps monoclonaux. Les conjugués de Monolisa™ HBs Ag ULTRA sont constitués des anticorps monoclonaux de souris et des anticorps polyclonaux de chèvre. Ces anticorps sont couplés à la peroxydase.

Mode opératoire

Suivre strictement le protocole proposé.

Utiliser les contrôles positif (R4) et négatif (R3) pour chaque série pour valider les résultats du test.

Suivre les bonnes pratiques de laboratoire.

- 1) Etablir soigneusement le plan de distribution et d'identification des échantillons.
- 2) Préparer la solution de lavage R2 (950 ml d'eau distillée +50ml de solution concentrée de solution de lavage).
- 3) Préparer la solution de conjugué (R6 + R7).
- 4) Sortir de l'emballage protecteur le cadre support et le nombre de barrettes nécessaires (R1). Remettre les barrettes non utilisées dans l'emballage et refermer ce dernier.
- 5) Distribuer dans les cupules dans l'ordre suivant (plan de plaque conseillée) :
 - Cupules A1, B1, C1 et D1 : 100 µl de contrôle négatif (R3)
 - Cupule E1: 100 µl de contrôle positif (R4)
 - Cupule F1:100 µl du premier échantillon à tester si cette cupule n'est pas utilisée comme cupule témoin pour la validation du dépôt des échantillons et du conjugué (optionnel)
 - Cupules G1, H1,... etc.: 100 µl d'échantillons à tester.

En fonction du système utilisé, il est possible de modifier la position ou l'ordre de distribution des témoins..

6) Secouer la solution du conjugué avant utilisation. Homogénéiser et distribuer rapidement 50 µl de la solution reconstituée de conjugué (R6 + R7) dans toutes les cupules. Homogénéiser le mélange réactionnel.

7) Lorsque cela est possible recouvrir d'un film adhésif et incubé pendant 1 heure et 30± 5 minutes à 37±1°C.

8) Retirer le film adhésif, aspirer le contenu de chaque cupule et laver au moins 5 fois. Veillez à ce que le volume résiduel n'excède pas 10 µl (éventuellement, sécher la plaque par retournement sur une feuille de papier absorbant).

9) Distribuer rapidement dans toutes les cupules 100 µl de la solution de révélation de l'activité enzymatique (R8 + R9) préalablement préparée. Recouvrir avec un papier aluminium et laisser la réaction se développer à l'obscurité pendant 30 ±5 minutes.

10) Ajouter 100 µl de la solution d'arrêt (R10) en adoptant la même séquence et le même rythme de distribution que pour la solution de révélation. Homogénéiser le mélange réactionnel.

11) Attendre au moins 4 minutes après la distribution de la solution d'arrêt avant la lecture et dans les 30 minutes qui suivent l'arrêt de la réaction, lire la densité optique à 450/620 nm à l'aide d'un lecteur de plaques.

12) S'assurer avant la transcription des résultats de la concordance entre la lecture et le plan de distribution et d'identification des plaques et des échantillons.

Remarque: Il est indispensable de respecter les procédures de lavage afin d'obtenir les performances maximales du test. Pour certains laveurs, il peut être nécessaire d'optimiser la procédure de lavage (augmentation du nombre de cycle de lavage et/ou du volume de tampon de lavage pour chaque cycle, temps de trempage) pour obtenir un niveau acceptable de bruits de fond (DO) pour les échantillons négatifs.

Conditions de validation du test

Toutes les valeurs du contrôle négatif : $DOR3 \leq 0,080$ UI de densité optique.

La valeur du contrôle positif : $DO R4 \geq 1.000$.

Si la valeur du contrôle négatif ne respecte pas la norme ou est supérieure de plus de 40 % par rapport à la moyenne des contrôles négatifs (DO R3), éliminer la et refaire le calcul de la moyenne de contrôle négatif sur les 3 autres valeurs. Une seule valeur peut être éliminée.

Dans le cas de bruit de fond très bas pour le contrôle négatif R3 (moyenne des valeurs négatives $R3 \leq 0,010$) ne pas utiliser le critère de rejet pour le contrôle négatif R3.

Le test est à recommencer si tous les contrôles sont hors de l'intervalle des valeurs ci-dessus

Test Monolisa Anticorps anti HBs:

Monolisa Anti-HBs PLUS permet la détermination qualitative et quantitative par technique immun enzymatique des anticorps dirigés contre l'antigène de surface du virus de l'hépatite B (anti HBs) éventuellement présent dans le sérum ou le plasma humain. C'est un test immunoenzymatique (EIA) direct de type sandwich dirigé contre les anticorps utilisant des microplaques sensibilisés à l'antigène de surface de l'hépatite B comme phase solide et un conjugué contenant de la peroxydase de raifort marqué à l'antigène de surface HBs Ag.

Principe du test Monolisa Anti-HBs

Echantillons et contrôle sont incubés dans des cupules sensibilisées à l'antigène de surface de l'hépatite B. Les anticorps anti-HBs éventuellement présents dans l'un des échantillons ou des contrôles se lient avec les antigènes formant ainsi un complexe antigène /anticorps. L'excès d'échantillon est éliminé par une phase de lavage .Le conjugué ajouté se lie au complexe antigène /anticorps formés précédemment dans des cupules .L'excès de conjugué est éliminé par une phase de lavage puis une solution de révélation enzymatique est ajoutée dans chaque cupules. Il s'en suit une phase d'incubation. Si un échantillon contient des anticorps anti- HBs l'enzyme lié HPR entraîne une coloration du TMB de la solution chromogène qui devient bleue. Après addition de la solution d'arrêt la coloration du substrat bleu tourne au jaune. Pour les échantillons ne contenant pas d'anticorps anti HBs, la coloration du substrat disparaît des cupules qui deviennent incolores pendant la phase d'incubation et après addition de la solution d'arrêt.les valeur d'absorbance mesurées par spectrophotométrie pour chaque échantillon est comparée à une valeur seuil (Vs) déterminée à partir du calibrateur 10ml.

Mode opératoire

1. Etablir soigneusement le plan de distribution et d'identification des échantillons.
2. Amener tous les réactifs à la température du laboratoire avant la mise en œuvre du test.
3. Préparer la solution de conjugué (R7a+R7b), la solution de révélation enzymatique (R8+R9) et la solution de lavage diluée R2.
4. Sortir le cadre support et les barrettes (R1) de l'emballage protecteur. Enlever les barrettes non nécessaires à l'essai et les remplacer avec des barrettes vides.

5. Diluer les échantillons, calibrateurs et contrôles aux 3/4 dans le diluant R6 selon l'une des deux méthodes suivantes :

a. Directement dans la cupule (ajouter 25 µl de diluant dans chaque cupule puis 75 µl d'échantillon ou contrôle, mélangé par aspiration refoulement 2 fois, doucement pour éviter la formation de mousse).

b. Avant addition dans les cupules (diluer 150 µl d'échantillon dans 50 µl de diluant échantillon, mélanger doucement pour éviter la formation de mousse, et transférer 100 µl dans la cupule).

N.B: Après addition de l'échantillon, le diluant va passer du pourpre au bleu. Il est possible de vérifier la présence de l'échantillon dans les puits par lecture spectrophotométrique à 620 nm

6. Déposer directement, sans prélavage de la plaque, successivement (plan de plaque suggéré),

Suivant la méthode choisie:

Méthode Qualitative

- Contrôle négatif Anti-HBs (C0) en A1,
- Calibrateur 10 mUI/ml (C1) en B1, C1, D1,
- Calibrateur 100 mUI/ml - Contrôle Positif (C2) en E1,
- Echantillons en F1, G1, etc....

Méthode Quantitative

- Contrôle négatif Anti-HBs (C0) en A1,
- Calibrateur 10 mUI/ml (C1) en B1, C1,
- Calibrateur 100 mUI/ml – Contrôle Positif (C2) en D1,
- Calibrateur 400 mUI/ml (C3) en E1,
- Calibrateur 1000 mUI/ml (C4) en F1,
- Echantillons en G1, etc.

En fonction du système utilisé, il est possible de modifier la position ou l'ordre de distribution des contrôles.

7. Couvrir avec un film adhésif en appuyant bien sur toute la surface pour s'assurer de l'étanchéité.

8. Incuber la microplaque 60 ± 5 minutes à $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

9. Retirer le film adhésif. Aspirer le contenu de toutes les cupules dans un conteneur pour déchets contaminés et ajouter immédiatement dans chacune d'elles un minimum de 0,375 ml de solution de lavage. Respecter un temps de trempage (temps d'attente) minimum de 30 secondes et maximum de 60 secondes. Aspirer de nouveau. Répéter le lavage au moins 4 fois (soit un minimum de 5 lavages au total). Le volume résiduel doit être inférieur à 10 μl (si nécessaire sécher la plaque par retournement sur une feuille de papier absorbant).

10. Si l'on dispose d'un laveur automatique, respecter le même cycle opératoire. .

11. Distribuer rapidement 100 μl de la solution de conjugué (R7a+R7b) dans toutes les cupules.

Recouvrir, si possible, d'un film neuf et incuber sans attendre 60 ± 5 minutes à $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

N.B: Le conjugué est de couleur verte. Il est possible de vérifier la présence de conjugué dans les puits par lecture photométrique à 620 nm

12. Retirer le film adhésif. Aspirer le contenu de toutes les cupules dans un conteneur pour déchets contaminés et ajouter immédiatement dans chacune d'elles un minimum de 0,375 ml de solution de lavage. Respecter un temps de trempage (temps d'attente) minimum de 30 secondes et maximum de 60 secondes. Aspirer de nouveau. Répéter le lavage au moins 4 fois (soit un minimum de 5 lavages au total). Le volume résiduel doit être inférieur à 10 μl (si nécessaire sécher la plaque par retournement sur une feuille de papier absorbant).

13. Si l'on dispose d'un laveur automatique, respecter le même cycle opératoire.

14. Distribuer rapidement dans toutes les cupules 100 μl de solution de révélation de l'activité enzymatique (R8+R9).

Laisser la réaction se développer à l'obscurité pendant 30 ± 5 minutes à température ambiante (18 à 30°C). Lors de cette incubation, ne pas utiliser de film adhésif.

N.B.: La solution de révélation est de couleur Rose.

15. Ajouter 100 µl de la solution d'arrêt (R10) en adoptant la même séquence et le même rythme de distribution que pour la solution de révélation. Homogénéiser le mélange réactionnel.

16. Essuyer soigneusement le dessous des plaques. Attendre au moins 4 minutes après la distribution de la solution d'arrêt, et, dans les 30 minutes qui suivent l'arrêt de la réaction, lire la densité optique à 450/620-700 nm et 405/620-700 nm à l'aide d'un lecteur de plaques.

S'assurer, avant la transcription des résultats, de la concordance entre la lecture des plaques, le plan de distribution et d'identification des échantillons.

Validation du test

Pour le Contrôle Positif (C2)

L'absorbance mesurée (DOC2) doit être tel que : $DOC2 \geq 0,400$

Pour les Contrôles Négatif (C0) et Positif (C2), si l'un des ces critères n'est pas observé dans les méthodes qualitative et quantitative, le test est invalidé et doit être recommencé.

Pour le Calibrateur 10 mUI/ml (C1)

$(0,050 \leq DOC1 \leq 0,200)$ et $DOC1 \geq (1,5 \times DOC0)$.

Dans le cas de la méthode qualitative, si l'une des trois valeurs de DOC1 mesurée sort de l'échelle des valeurs de validation ($0,050 \leq DOC1 \leq 0,200$), la moyenne sera calculée à partir des deux valeurs restantes. Le test sera donc validé.

Si plusieurs valeurs de DOC1 mesurées sortent de l'échelle des valeurs de validation, le test est invalidé et doit être recommencé.

Dans le cas de la méthode quantitative, si l'une des deux valeurs de DOC1 mesurée sort de l'échelle des valeurs de validation ($0,050 \leq DOC1 \leq 0,200$), le test est invalidé et doit être recommencé

Test Monolisa Hbe-Ag/Ab PLUS,

Monolisa™ Hbe Ag-Ab PLUS permet la détermination qualitative par technique immunoenzymatique de l'antigène du virus de l'hépatite B (Ag Hbe) et/ou des anticorps dirigés contre l'antigène du virus de l'hépatite B (Anti-HBe) éventuellement présents dans le sérum ou le plasma humain).

-Principe du test Monolisa HBe-Ag/Ab PLUS

a) Détection de l'antigène Hbe

La détection de l'Ag Hbe repose sur une technique immunoenzymatique du type "sandwich" en deux temps, utilisant un anticorps Anti-HBe humain et un couple d'anticorps monoclonaux Anti-HBe marqués (Acm1 et Acm2) d'origine murine reconnaissant des épitopes différents.

La phase solide est constituée par 12 barrettes de 8 cupules en polystyrène sensibilisées avec l'anticorps Anti-HBe humain. Les deux anticorps monoclonaux sont couplés à la peroxydase.

Le dosage comprend les étapes réactionnelles suivantes :

1. Incubation des échantillons et des contrôles en présence du premier anticorps Anti-HBe humain fixé sur la phase solide.
2. Lavage, puis incubation des complexes insolubilisés avec le couple d'anticorps monoclonaux marqués à la peroxydase.
3. Elimination, par lavage, du conjugué resté libre, puis révélation de l'activité enzymatique liée à la phase solide par addition du substrat.
4. Arrêt de la révélation, puis lecture des densités optiques à 450/620 nm et interprétation des

Résultats.

b) Détection des anticorps anti-HBe

Pour la détection des anticorps anti-HBe, la trousse utilise la même phase solide que pour l'Anti-HBe. Le test est basé sur le principe de la compétition entre l'anticorps insolubilisé et l'anticorps présent dans l'échantillon vis-à-vis d'une quantité limitée d'antigène Hbe, d'origine plasmatique, utilisé comme réactif de neutralisation. La révélation se fait ensuite à

l'aide d'un autre mélange du couple d'anticorps monoclonaux (Acm1 et Acm2) marqués à la peroxydase.

Le test comprend les étapes réactionnelles suivantes :

1. incubation des échantillons et des contrôles en présence du premier anticorps Anti-HBe humain immobilisé sur la phase solide et de l'antigène de neutralisation.
2. Lavage, puis incubation des complexes insolubilisés avec le couple d'anticorps monoclonaux marqués à la peroxydase.
3. Élimination, par lavage, du conjugué resté libre, puis révélation de l'activité enzymatique liée à la phase solide par addition du substrat.
4. Arrêt de la révélation, puis lecture des densités optiques à 450/620 nm et interprétation des résultats.

- Composition de la trousse

Tous les réactifs sont destinés à l'usage du diagnostic «*in-vitro*»

Les réactifs sont fournis en quantité suffisante pour réaliser 2 x 96 déterminations en 1 à 12 manipulations indépendantes et selon les combinaisons suivantes :

- soit 96 déterminations d'Ag Hbe et 96 déterminations d'Ac Hbe
- soit 2 x 48 déterminations d'Ag Hbe et 2 x 48 déterminations d'Anti-HBe simultanément

Mode opératoire

Les tests Ag HBe et Anti-HBe peuvent s'effectuer sur la même plaque. Dans ce cas, nous conseillons :

- Test Anti-HBe : Colonnes 1 à 6
- Test Ag HBe : Colonnes 7 à 12

Pour les lavages, le volume minimum est de 0.55 ml par lavage et par puits.

a) Protocole du test Anti-HBe

1. Préparer la solution de lavage.

2. Sortir de l'emballage protecteur le cadre support, et le nombre de barrettes nécessaires. Remettre les barrettes non utilisées dans l'emballage et refermer ce dernier.

3. Distribuer dans les cupules successivement (plan de plaque suggéré) :

- A1, B1, C1 : 100 µl de contrôle négatif (R3)
- D1 : 100 µl de contrôle positif (R4)
- E1, F1, G1 : 100 µl d'échantillon inconnu.

En fonction du système utilisé, il est possible de modifier la position ou l'ordre de distribution des contrôles.

NB : Visuellement, une nette différence de coloration peut être observée entre une cupule vide transparente et une cupule contenant un échantillon (jaune pâle).

4. Ajouter rapidement 50 µl d'antigène neutralisant (R6) par cupule. Homogénéiser.

Recouvrir d'un film adhésif, laisser incuber 3 heures \pm 10 minutes à 37°C \pm 1°C.

NB : Visuellement, une coloration rose peut être observée après addition de l'antigène neutralisant R6.

5. Préparer la solution de conjugué R7a avant la fin de la première incubation.

6. Retirer le film adhésif, vider par aspiration le contenu de chaque cupule puis faire quatre lavages.

7. Distribuer rapidement 100 µl de la solution de conjugué R7a dilué avec le R2 pré-dilué par cupule ou, déposer dans l'ordre 80µl de R2 dilué puis 20µl de conjugué R7a par cupule. Homogénéiser ; Couvrir d'un film adhésif, et laisser incuber 30 minutes (minimum 25 minutes, maximum 40 minutes) à 37°C \pm 1°C. Retirer le film adhésif, vider par aspiration le contenu de chaque cupule puis laver cinq fois.

NB : Visuellement, une coloration violette peut être observée après addition du conjugué R7a.

Il est possible de vérifier par lecture photométrique à 620 nm la présence du conjugué R7a dans les cupules.

8. Préparer la solution de révélation enzymatique (R8 + R9).

9. Distribuer rapidement 80 µl de la solution de révélation par cupule et placer la plaque 30 minutes ± 5 minutes à l'obscurité et à température ambiante (+18-30°C).

N.B.: La distribution de la solution de révélation, qui est colorée en rose, peut être contrôlée visuellement à ce stade de la manipulation : Il y a une différence de coloration significative entre une cupule vide et une cupule contenant la solution de révélation rosée.

13 pour la vérification automatique

10. Ajouter rapidement 100 µl de la solution d'arrêt (R10) dans chaque cupule.

N.B.: La distribution de la solution d'arrêt, qui est incolore, peut être contrôlée visuellement à ce stade de la manipulation. La coloration du substrat, rosée (pour les échantillons négatifs) ou bleue (pour les échantillons positifs), disparaît des cupules qui deviennent incolores (pour les échantillons négatifs) ou jaunes (pour les échantillons positifs) après addition de la solution d'arrêt.

11. Attendre 4mn avant la lecture.

12. Essuyer soigneusement le dessous de la plaque, et lire la densité optique à 450/620 nm, dans les 30 minutes qui suivent l'arrêt de la réaction.

b) Protocole du test Ag HBe

1. Préparer la solution de lavage.

2. Sortir de l'emballage protecteur, le cadre support, et le nombre de barrettes nécessaires.

Remettre les barrettes non utilisées dans l'emballage et refermer ce dernier.

3. Distribuer dans les cupules, successivement (plan de plaque suggéré) :

- A1, B1, C1 : 100 µl de contrôle négatif (R3)
- D1 : 100 µl de contrôle positif (R5)
- E1, F1, G1 : 100 µl d'échantillon inconnu

En fonction du système utilisé, il est possible de modifier la position ou l'ordre de distribution des contrôles.

NB : Visuellement, une nette différence de coloration peut être observée entre une cupule vide transparente et une cupule contenant un échantillon (jaune pâle).

4. Recouvrir d'un film adhésif, laisser incuber 3 heures \pm 10 minutes à $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.
5. Préparer la solution de conjugué R7b avant la fin de la première incubation.
6. Retirer le film adhésif, vider par aspiration le contenu de chaque cupule dans le conteneur de déchets, puis laver quatre fois.
7. Distribuer rapidement 100 μl de la solution de conjugué R7b dilué avec le R2 pré-dilué dans toutes les cupules ou, déposer dans l'ordre 80 μl de R2 dilué puis 20 μl de conjugué R7b par cupule. Homogénéiser ; Couvrir d'un film adhésif et laisser incuber 30 minutes (minimum 25 minutes, maximum 40 minutes) à $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

NB : Visuellement, une coloration bleue turquoise peut être observée après addition du conjugué R7b.

8. Retirer le film, vider le contenu de chaque cupule, dans le conteneur de déchets puis laver cinq fois.
9. Préparer la solution de révélation enzymatique (R8 + R9).
10. Distribuer rapidement 80 μl de la solution de révélation par cupule et placer la plaque 30 \pm 5 minutes à l'obscurité à température ambiante ($+18 - 30^{\circ}\text{C}$).

N.B: La distribution de la solution de révélation, qui est colorée en rose, peut être contrôlée visuellement à ce stade de la manipulation : Il y a une différence de coloration significative entre une cupule vide et une cupule contenant la solution de révélation rosée

11. Ajouter rapidement 100 μl de la solution d'arrêt (R10) dans chaque cupule.
12. Attendre 4mn avant la lecture.
13. Essuyer soigneusement le dessous de la plaque, et lire la densité optique à 450/620 nm, dans les 30 minutes qui suivent l'arrêt de la réaction.

c) Protocole des tests Anti-HBe et Ag HBe sur la même plaque

Les protocoles sont identiques à ceux décrits précédemment. Seule la disposition est modifiée sur la plaque.

- Test Anti-HBe : Colonnes 1 à 6

- Test Ag HBe : Colonnes 7 à 12

S'assurer, avant la transcription des résultats, de la concordance entre la lecture et le plan de distribution et d'identification des plaques et des échantillons.

Remarque : Il est essentiel de respecter les procédures de lavage pour obtenir de bons rendements. Pour certains instruments, il peut être nécessaire d'augmenter le nombre de cycles de lavage pour atteindre un bruit de fond

Validation du test

Validation du test Ag HBe

DO R3 < 0.060

DO R5 > 0,800

Validation du test anti-HBe

DO R3 > 0,900

DO R4 < 0.150

Test Monolisa IgM anti HBc

Monolisa™ HBc IgM PLUS est une technique immunoenzymatique de type “sandwich” pour la détermination qualitative des anticorps de classe IgM dirigés contre l’antigène du “core” du virus de l’Hépatite B. Les anticorps anti-HBc sont les premiers anticorps à apparaître au cours d’une infection par le virus de l’Hépatite B et sont souvent détectés à la phase initiale de l’infection en association avec l’antigène HBs. Au cours des primo-infections virales sont synthétisés des anticorps de classe IgM puis des anticorps de classe IgG. Ces anticorps de classe IgM persistent en général quelques semaines ou quelques mois et vont diminuer progressivement au cours de la convalescence. Les anticorps de classe IgG peuvent persister plusieurs années après la guérison. La détection des anticorps de classe IgM spécifiques de l’antigène HBc permet d’établir le diagnostic d’Hépatite B aiguë et se montrera particulièrement utile lorsque l’antigénémie HBs a cessé et que les anticorps Anti-HBs ne sont pas encore apparus. Dans certains cas, il est possible de détecter des anticorps IgM anti- HBc à titre faible au cours d’hépatite chronique.

Principe du test

Monolisa™ HBc IgM PLUS est une technique immunoenzymatique de type “sandwich” en 2 temps avec capture des anticorps IgM sériques sur la phase solide puis addition du conjugué (protéine recombinante de l’antigène HBc originaire de levure et couplée à la peroxydase).

La phase solide est constituée par 12 barrettes de 8 cupules sensibilisées avec un anticorps de chèvre anti-IgM humaine.

L’antigène HBc est directement couplé à la peroxydase.

Mode opératoire

1. Préparer la solution de lavage R2.
2. Diluer les échantillons au 1/101 dans le diluant(R5). (10 µl de sérums + 1000 µl de réactif R5). Les contrôles négatifs (R3) et positifs (R4) sont fournis sous forme pré-dilués. Ils ne doivent pas être dilués comme les échantillons.
3. Sortir de l’emballage protecteur le cadre support et le nombre de barrettes nécessaires (R1). Remettre les barrettes non utilisées dans l’emballage et refermer ce dernier.

4. Remplir toutes les cupules avec 0,370 ml de solution de lavage. Vider par aspiration le contenu des cupules dans le conteneur de déchets. Répéter le lavage une fois, puis sécher la plaque par retournement sur du papier absorbant. Si l'on dispose d'un laveur automatique, respecter le même cycle opératoire.

5. Distribuer dans les cupules les sérums de contrôle non dilués et les échantillons dilués au 1/101 dans l'ordre suivant :

- Cupules A1, B1, C1 : 100 µl de contrôle négatif (R3)
- Cupules D1, E1, F1 : 100 µl de contrôle positif (R4)
- Cupules G1, H1 ...etc. : 100 µl d'échantillons inconnus.

En fonction du système utilisé, il est possible de modifier la position ou l'ordre de distribution des contrôles.

6. Recouvrir d'un film adhésif, et incuber 30 ± 5 mn à $37 \pm 1^\circ\text{C}$

7. Préparer la solution de conjugué (R6 + R7)

8. Retirer le film adhésif, vider par aspiration le contenu de chaque cupule dans le conteneur de déchets puis laver 3 fois comme à l'étape 4.

9. Distribuer 100 µl de la solution de conjugué par cupule. Couvrir d'un film adhésif et incuber 60 ± 5 mn à $37 \pm 1^\circ\text{C}$

N.B : La distribution de la solution de conjugué, qui est colorée en rouge, peut être contrôlée visuellement à ce stade de manipulation : Il y a une différence de coloration significative entre une cupule vide et une cupule contenant la solution de conjugué rouge.

10. Retirer le film adhésif, vider par aspiration le contenu de chaque cupule dans le conteneur de déchets, puis laver 6 fois comme à l'étape 4.

11. Préparer extemporanément la solution de révélation enzymatique (R8 + R9)

12. Distribuer rapidement dans toutes les cupules 80 µl de la solution de révélation de l'activité enzymatique (R8 + R9) préalablement préparée. Laisser la réaction se développer à l'obscurité pendant 30 ± 5 minutes à température ambiante (18 à 30°C). Lors de cette incubation, ne pas utiliser de film adhésif.

N.B: La distribution de la solution de révélation, qui est colorée en rose, peut être contrôlée visuellement à ce stade de manipulation : Il y a une différence de coloration significative entre une cupule vide et une cupule contenant la solution de révélation rosée

13. Ajouter 100 µl de la solution d'arrêt (R10) en adoptant la même séquence et le même rythme de distribution que pour la solution de révélation. Homogénéiser le mélange réactionnel.

N.B: La distribution de la solution d'arrêt, qui est incolore, peut être contrôlée visuellement à ce stade de la manipulation. La coloration du substrat, rosée (pour les échantillons négatifs) ou bleu (pour les échantillons positifs), disparaît des cupules qui deviennent incolores (pour les échantillons négatifs) ou jaunes (pour les échantillons positifs) après addition de la solution d'arrêt.

14. Essuyer soigneusement le dessous des plaques.

Attendre au moins 4 minutes après la distribution de la solution d'arrêt et dans les 30 minutes qui suivent l'arrêt de la réaction, lire la densité optique à 450/620-700 nm à l'aide d'un lecteur de plaques.

15. S'assurer avant la transcription des résultats de la concordance entre la lecture et le plan de distribution et d'identification des plaques et des échantillons.

Il est possible de vérifier la présence de la solution de révélation rosée par lecture automatique à 490 nm : une cupule contenant la solution de révélation doit avoir une densité optique supérieure à 0.100 (une DO plus faible indique une mauvaise distribution de la solution de révélation).

Validation du test

La moyenne des valeurs du contrôle positif (DO R4) doit être supérieure ou égale à : 0,4 unité de densité optique : $DO R4 \geq 0,400$.

La moyenne des valeurs du contrôle négatif (DO R3) doit être inférieure ou égale à : 0,1 unité de densité optique : $DO R3 \leq 0,100$.