



RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE



وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الإخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم الكيمياء الحيوية و البيولوجيا الخلوية و الجزيئية
Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Moléculaire et Santé

Intitulé :

Profil sérologique en Ag HBs (HVB) et anti HVC –(HVC) des malades en hémodialyse

Présenté et soutenu par :

Le : 18/06/2015

REKHOUM AMINA

SANA MERIEM

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mr. ZITOUNI .A

(Maitre assistant. A- UFM Constantine).

Examineurs : Mr. GRAMA .M

(Maitre assistant. A-UFM Constantine).

Rapporteur : Mr. YAOU .A

(Maitre assistant. A- UFM Constantine).

Dr. ALLAG .H

Année universitaire
2014 - 2015

REMERCIEMENTS

Nous commençons tout d'abord par rendre grâce à ALLAH qui nous a donné la santé, la force et les moyens nécessaires pour mener à terme ce travail.

Nous exprimons notre profonde gratitude et nos vifs remerciements à :


Ms YAOU ARREZKI et Dr ALLAG HAMOUDI

Notre encadreur pour sa patience et ses précieux conseils.

Nous tenons à remercier très sincèrement, les membres de jury d'avoir bien voulu accepter de faire partie de la commission d'examineur.

Et enfin un grand remerciement à l'ensemble du personnel de la clinique d'urologie-néphrologie et transplantation rénale « BOUCHRIT ABD-ELKADER » de CONSTANTINE pour leur aide à la réalisation de ce modeste travail.

Amina et Meriem



*Je dédie ce travail aux personnes les plus chères
au monde*

*A l'homme qui ma toujours comblé de tendresse et des gâteries, à
celui à qui je dois toute ma reconnaissance pour tous les
sacrifices qui a fait m'aider à arriver à ce stade*

*A mon père : **HACENE***

*A la femme, qui était la source de ma réussite à celle qui m'a enterre
des soins et qui m'a épargné toute inquiétude et tout souci tout au
long de mes années d'études*

*A ma mère : **HALIMA***

*À mes frères : **MOHAMED EL AMINE et ABDENOUR***

*À ma adorable sœur : **IKRAM***

*A ma sœur **KAOUTER** et son mari **AMAR** et ses fils **TAKIA SIRAJ**
EDDINE, ISRAE*

*Toutes les familles : **REKHOUM et BOUSBAH***


*A mes amis : **AFEF, GHOUFRANE, RIMA, OUMNIA,**
WAFI, OULIA*

A tous mais amies qui ont connus

*A mon binôme **MERJEM** qui a partagée avec moi ce modeste travail*

À toute la promotion de master 2 biochimie moléculaire et cellulaire

AMINA



*Je dédie ce travail aux personnes les plus chères
au monde*

*A l'homme qui ma toujours comblé de tendresse et des gâteries, à
celui à qui je dois toute ma reconnaissance pour tous les
sacrifices qui a fait m'aider à arriver à ce stade*

*A mon père : **NACER EDDINE***

*A la femme, qui était la source de ma réussite à celle qui m'a enterre
des soins et qui m'a épargné toute inquiétude et tout au long de mes
années d'études*

*A ma mère : **HOURIA***

*A mon mari : **YAKOUB***

*A ma tante : **LEILA***

*Toutes les familles : **SANA, ZAAROUR ET HAYOUN***

*A mes amis : **KHAOULA, BAYA, ZINEB, RANIA, SONIA***

A tous mais amies qui ont connus

*A mon binôme **AMINA** qui a partagée avec moi ce modeste travail*

À toute la promotion de master 2 biochimie moléculaire et cellulaire

MERJEM

Sommaire

INTRODUCTION GENERALE	01
------------------------------------	-----------

PARTIE 1 : PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1 : LE FOIE ET LES HEPATITES VIRALES

1. le foie	02
1.1.Définition.....	02
1.2. Structure du foie	03
1.3. Fonction du foie	04
1.4. Les maladies du foie	04
1.4.1. Les Hépatites	04
1.4.2. La cirrhose du foie	05
2. Les hépatites virales	05
2.1. Généralité sur les hépatites virales	05
2.2. Les virus de l'hépatite virale	06
2.2.1. Le virus de l'hépatite virale A (VHA)	06
2.2.2. Le virus de l'hépatite virale B (VHB)	07
2.2.3. Le virus de l'hépatite virale C(VHC)	07
2.2.4. Le Virus de l'hépatite virale delta D (VHD)	07
2.2.5. Le virus de l'hépatite virale E (VHE)	08
2.3. Comparaison entre les virus d'hépatite	09
2.4.Classification en caractéristique clinique et biologique des virus d'hépatite humains.....	10

CHAPITRE 2 : INSUFFISANCE RENALE ET HEMODIALYSE

1. Les reins et les maladies rénales	11
1.1. Les reins	12
1.2. Les insuffisances rénales	13
1.3. Les fonctions des reins	13
2.La dialyse	14

3. L'hémodialyse	14
3.1. Quand faut- il débiter les hémodialyses ?	15
3.2. Hémodialyse et immunosuppression	15
3.3. Principe de l'hémodialyse	16
3.4. Le matériel nécessaire	18
3.5. Risque infectieux en hémodialyse	18

CHAPITRE 3 : LES HEPATITES VIRALES B CHEZ LES HEMODIALYSEE

1. Généralité sur le virus	21
1.1. Qu'est-ce que l'hépatite B?	21
1.2. Historique	22
1.3. Classification	22
1.4. Structure du VHB	22
1.4.2. Particules virales complètes	23
1.4.1. Particules subvirales	23
1.5. Organisation Génomique	24
1.6. Cycle de Réplication Du VHB	26
2. L'infection par le virus de l'hépatite B chez les hémodialysés	28
2.1. Caractéristiques Epidémiologique	28
2.2. Caractéristique virologique et biochimique	28
2.3. Circonstance de transmission	28
2.4. Histoire naturelle de l'hépatite B	29
3. Diagnostic virologique de l'hépatite B	29
3.1. Marqueur sérologique	30
3.2. Marqueur de réplication virale	32
3.3. Les nouveaux marqueurs virologiques	32
4. Coïnfection par l'hépatite D	34
5. Traitement	35
4.1. Les objectifs du traitement.....	35

4.2. Les molécules actives contre le VHB	35
--	----

CHAPITRE 4 : LES HEPATITES VIRALES C CHEZ L'HEMODIALYSEES

1. Généralité sur le virus	39
1.1. Présentation de l'hépatite C	39
1.2. Historique	40
1.3. Classification	41
1.4. Structure du VHC	41
1.5. L'organisation génomique du VHC	42
1.6. Tropisme et multiplication du VHC	43
1.7. Le cycle viral.....	44
1.8. Variabilité génétique du VHC	46
2- L'infection par le virus de l'hépatite C chez les hémodialysées	46
2.1. Caractéristiques épidémiologiques	47
2.2. Caractéristiques virologiques	48
2.3. Caractéristiques de l'infection à VHC en hémodialyse	49
2.4. Circonstance de transmission	49
2.5. Histoire naturelle de l'infection par HCV chez les patients hémodialysées.....	51
3. Diagnostic de l'hépatite virale C chez les hémodialysées	51
3.1. Diagnostic dans la population générale	52
3.2. Diagnostic chez l'hémodialysé chronique	54
3.3. Cinétique des marqueurs sériques du VHC	55
4. Traitement de l'hépatite C	55
4.1. Facteurs liés au VHC	56
4.2. Facteurs liés à l'hôte	

PARTIE 2 : PARTIE PRATIQUE

1. Lieu et but du stage	59
1.1. Lieu du stage	59
1.2. Le but du stage	59
2. La chaine ELISA	59

2.1. Historique.....	59
2.2. Le but de la technique ELISA	59
2.3. Le principe de la technique ELISA.....	60
2.4. Le matériel de la chaine ELISA	61
3. La recherche des virus majeurs transmissibles par le sang	62
4. Dépistage du VHB	64
4.1. Le but du dépistage	64
5. Dépistage du VHC	70
5.1. But du dépistage	70
5.2. La composition de la trousse	70
5.3. Réactifs à reconstituer	71
5.4. Mode opératoire.....	72
5.5. Calcul et interprétation des résultats	74
6. Avantages et inconvénients de la technique ELISA	75
6.1. Avantages de la technique ELISA.....	75
6.2. Inconvénients de la technique ELISA.....	75
RECOMMANDATIONS ET STATISTIQUES	
1. Précautions standards en hémodialyse	76
2. Statistique du VHB/VHC la clinique d’urologie-néphrologie et transplantation rénale « Bouchrit Abd Alkader » de Constantine en Janvier 2014- Mai 2015.....	78
2.1. Statistique du VHB la clinique d’urologie-néphrologie et transplantation rénale « Bouchrit Abd Alkader » de Constantine en Janvier 2014- Mai 2015	78
2.2. Statistique du VHC la clinique d’urologie-néphrologie et transplantation rénale « Bouchrit Abd Alkader » de Constantine en Janvier 2014- Mai 2015	79
Conclusions.....	83

Liste des figures

Figure	Titre	Page
01	Structure du foie	4
02	Anatomie du rein	13
03	L'hémodialyse est une méthode d'épuration du sang par la création d'un circuit de circulation extracorporelle et son passage dans un dialyseur	16
04	De solutés par transfert diffusion	18
05	Transfert d'eau et de solutés par convection	18
06	La machine de l'hémodialyse	19
07	Le cite de risque en hémodialyse	20
08	Structure du virus de l'hépatite B	23
09	Particules virales sériques circulants du virus de l'hépatite B	24
10	Organisation du génome du VHB et phase de lecture	25
11	Représentation schématique de la structure de l'ADN polymérase du VHB.	26
12	Réplication du génome viral	27
13	Représentation simplifiée du cycle de réplication du VHB	27
14	Evolution des marqueurs sériques de l'hépatite B au cours de l'hépatite aiguë ou chronique	33
15	Structure moléculaire de l'adéfovir et de la lamivudine	37
16	Algorithme de traitement de l'infection virale B selon le traitement de l'insuffisance rénale	38
17	Classification taxinomique du virus de l'hépatite C.	41
18	Le virus de l'hépatite C	42
19	Organisation génomique du VHC.	43
20	Cycle réplcatif du HCV	45

Liste des figures

21	Arbre phylogénétique des souches virales HCV construit à partir de génomes complets du HCV disponibles en 2010	46
22	Cinétique des marqueurs biologiques au cours de l'hépatite virale C. (VHC : virus de l'hépatite C, ARN : acide ribonucléique, ALT : alanine aminotransférase).	52
23	Histoire naturelle de l'hépatite virale C. (CHC : carcinome hépatocellulaire).	52
24	Algorithme de traitement du VHC.	57
25	la clinique d'urologie-néphrologie et transplantation rénale « Bouchrit Abd Alkader » de Constantine.	60
26	schéma générale présente le principe de la chaîne ELISA.	61
27	Incubateur de la chaîne ELISA.	61
28	Laveur de la chaîne ELISA.	61
29	Réservoir pour la solution de lavage.	62
30	Spectrophotomètre de la chaîne ELISA.	63
31	Imprimante de la chaîne ELISA.	63
32	la coagulation pour la séparation caillot de sang du plasma.	64
33	la séparation du plasma et des caillots de sang.	64
34	la centrifugation des échantillons à l'aide d'une centrifugeuse.	64
35	L'accueil du sérum à l'aide d'une micropipette.	65
36	La trousse de Monolisa™ HBs Ag ULTRA.	66
37	Identification des échantillons avant manipulation.	67
38	Ajout des sérums (et témoins positifs et négatifs) et le conjugué.	68
39	Lecture de la densité optique au microscope	68
40	La composition de la trousse de Monolisa™ HCV Ag-Ab ULTRA	72
41	Incubation de la microplaque.	73

Liste des figures

42	Lavage des solutions de la microplaque. Représentation graphique de nombre de personnes atteints du VHB par service 79	79
44	Représentation graphique de nombre de personnes atteints du VHB en fonction de leurs âges.	80
45	Représentation graphique de nombre de personnes atteints du VHC par service.	81
46	Représentation graphique de nombre de personnes atteints du VHC en fonction de leurs âges.	81

Liste des tableaux

Numéro	Titre	Page
01	Comparaison ente les virus d'hépatite	10
02	Classification en caractéristique clinique et biologique des virus d'hépatite humains	11
03	Différentes situations sérologiques rencontrées au cours de l'infection à VHB	32
04	Composition de la trousse destinée au dosage du VHB.	64
05	Composition de la trousse de « BIO-RAD » destinée au dosage du VHC.	70
06	Nombre de patients atteints du VHB à la clinique d'Urologie-Néphrologie et Transplantation Rénale de Constantine	78
07	Nombre de patients atteints du VHC à la clinique d'urologie-néphrologie et transplantation rénale de Constantine	79

ABREVIATIONS

Ac anti-HBc	Anticorps anti-protéine “core”.
Ac anti-HBe	Anticorps anti-protéine ”precore”.
Ac anti-HBs	Anticorps anti-protéine de surface.
Ag ABe	Protéine de « precore »,antigène du VHB.
Ag ABs	Antigène de surface.
Ag HBc	Antigène de capsid du VHB.
CBP	La cirrhose biliaire primitive.
CHC	Carcinome hépatocellulaire.
CSP	La cholangite sclérosante primitive.
DOPPS	Dialysis outcomes and practice patterns study.
GAGs	Glycosaminoglycans.
HD	Hémodialyse.
IAV	Infections sur accè vasculaire.
IFN	Interféron.
IRC	Insuffisance rénale chronique.
IRES	Le site interne d’entrée des ribosomes.
KDIGO	Kidney Disease: Improving Global Outcomes.
LDLR	Récepteurs des lipoprotéines.
NIH	National Institutes of Health.
ORF	Cadre ouvertes de lecture.
Pb	Pair de base.
TLR	Toll like receptor.
VHA	Virus de l’hépatite A.
VHB	Virus de l’hépatite B.
VHC	Virus de l’hépatite C.
VHD	Virus de l’hépatite Delta.
VHE	Virus de l’hépatite E.
VIH	Virus de l’Immunodéficience Humaine.

Introduction générale

Introduction

L'hépatite est une inflammation du foie, le plus souvent causée par une infection à un virus, mais parfois par l'alcoolisme, ou par une intoxication par un médicament ou par un produit chimique. (2).

Les virus des hépatites B et C infectent respectivement 350 et 170 millions de personnes à travers le monde. Ces virus sont un problème de santé publique, car ils sont responsables de la majorité des cancers du foie dans le monde. Plus de 80% des personnes infectées par le virus de l'hépatite C sont des « porteurs » chroniques du virus et constituent un réservoir potentiel pour sa transmission. Contrairement au Virus de l'Hépatite B (VHB), aucun vaccin efficace n'est disponible contre le VHC et le traitement proposé au patient atteint d'hépatite C est onéreux et n'est pas spécifique. La durée et l'issue de ce traitement dépendent en grande partie de la souche virale en cause dans l'infection. (54)

Les infections virales hépatotropes, fréquentes chez les patients dialysés et greffés rénaux sont principalement secondaires aux transfusions sanguines mais également à la transmission nosocomiale dans les centres d'hémodialyse ou par transplantation d'un greffon infecté. Les hépatites virales A et E ont des caractéristiques épidémiologiques et une évolution comparables à celles observées dans la population générale. Les infections par les autres virus hépatotropes, potentiellement responsables d'infections chroniques (virus des hépatites B ou VHB et C ou VHC, principalement) sont, en revanche, plus fréquentes que dans la population générale.

Alors que les infections par les virus de l'hépatite G et le virus TTV n'entraînent pas ou peu d'augmentation de la morbidité et de la mortalité, les virus des hépatites B et C semblent au contraire avoir un impact significatif dans cette population. (67)

Ce travail est structuré sur deux parties :

La première partie est une partie théorique qui porte d'un part des généralités sur les insuffisances rénaux et l'hémodialyse, et d'autre part sur les virus des hépatites et leurs infections chez les patients hémodialysés

La deuxième partie est une partie pratique basée sur la technique de dépistage du VHB et VHC et prévalence de l'infection de ces virus au niveau de la clinique **d'urologie-néphrologie et transplantation rénale « Bouchrit Abd Alkader » de Constantine.**

Le but de l'étude est pour la détermination de prévalence des anticorps Ag HBs et de l'anti HVC, chez les patients suivi en hémodialyse et en dialyse péritonéale, par une technique immuno-enzymatique au niveau de la **clinique d'urologie-néphrologie et transplantation rénale « Bouchrit Abd Alkader » de Constantine**, et dégager les principaux facteurs de risque de contamination et détecté les nouveaux mesure d'hygiène universel

Partie 1 :

Partie bibliographique

Chapitre : 1
Le Foie et
Les hépatites virales

1. le foie

1.1. Définition

Le foie est un organe essentiel du corps puisqu'il traite l'élimination des toxines de tout l'organisme. Lorsqu'il est sain, il constitue une véritable petite usine de transformation chimique, qui préserve le corps en le purifiant et protège le système immunitaire du risque de surcharges. De plus, il constitue l'élément fondamental du maintien d'un métabolisme équilibré et donc du contrôle du poids.

En favorisant son bon fonctionnement par un régime de vie approprié, nous pouvons atténuer ou guérir de nombreux troubles de santé reliés à cet organe : fatigue chronique, manque d'entrain, surpoids, dépression nerveuse, problèmes dus à l'abus d'alcool, maladies de la peau, etc. Avec clarté et précision, l'auteur nous décrit son rôle et tous les maux et maladies qui peuvent l'affecter. Et, surtout, il nous explique, en fonction d'une approche globale, les règles alimentaires à suivre pour avoir un foie en santé. Il nous propose également des méthodes curatives naturelles efficaces pour le régénérer. (1)

1.2. Structure du foie

Il pèse en moyenne 1,5 kilogramme et constitue 2 % de la masse corporelle, il représente l'organe le plus grand du corps humain. Il est constitué de deux parties, le lobe gauche (1/3 du volume) et le lobe droit (2/3 du volume), séparés par le ligament falciforme.

Le foie est très vascularisé, principalement par l'artère hépatique (apport d'oxygène) et par la veine porte (apport de nutriments de l'intestin). Le retour veineux est assuré par les veines hépatiques.

Le foie est constitué à 80 % d'hépatocytes, mais d'autres types cellulaires sont également présents (cellules des canaux biliaires, endothéliales, cellules immunitaires...). Les cellules hépatiques sont regroupées en lobules hépatiques, eux-mêmes assemblés grâce à du tissu conjonctif. (3)

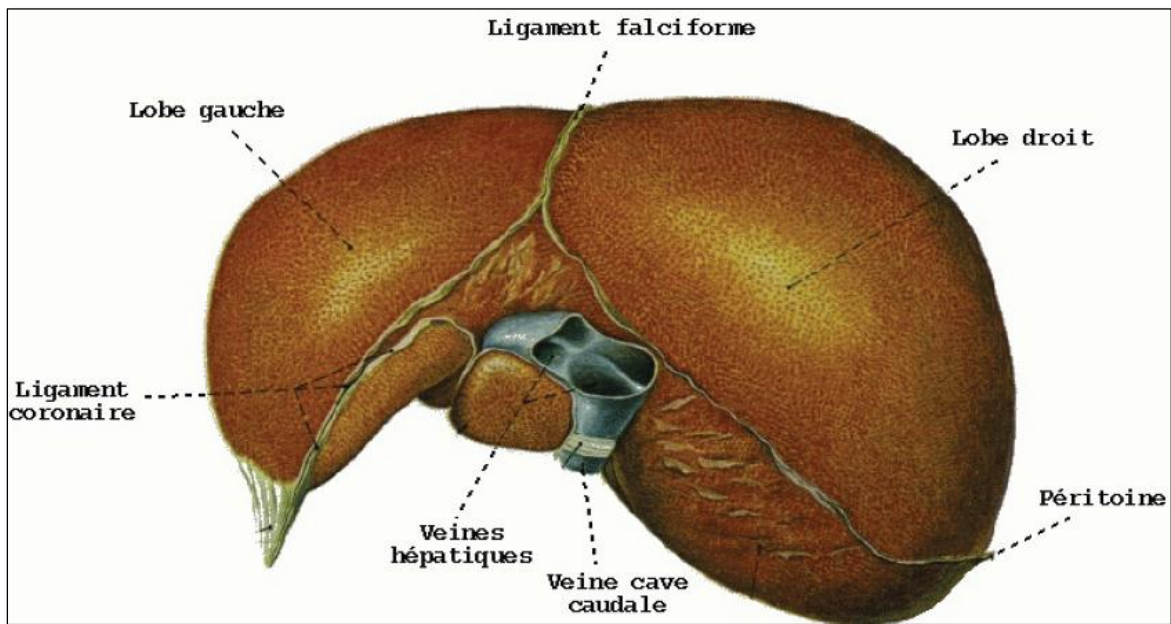


Figure 01 : Structure du foie

1.3. Fonction du foie

Le foie possède trois principales fonctions :

1.3.1. Stockage

Le foie reçoit une grande partie du sang provenant directement du système digestif. Il est capable de stocker les nutriments apportés par la digestion et de les transformer en molécules plus complexes. Il participe au métabolisme des glucides et des lipides. Il peut donc transformer les glucides en glycogène et le stocker, pour finalement libérer progressivement du glucose dans le sang, en fonction des besoins de l'organisme. Il est le seul organe à la fois hypoglycémiant et hyperglycémiant. Les acides gras aussi sont transformés en molécules lipidiques complexes (triglycérides) afin de les stocker dans les adipocytes (cellules graisseuses). Il synthétise ou dégrade le cholestérol qui est un précurseur d'hormone et participe à la construction des membranes des cellules. Le foie est aussi capable de stocker des vitamines liposolubles.

1.3.2. Épuration

Le foie est également l'usine de recyclage de l'organisme : il est en charge de détoxifier le corps, en métabolisant l'alcool, les drogues, les médicaments...

1.3.3. Synthèse

Le foie synthétise la bile. Celle-ci est transportée via des canaux biliaires vers la vésicule biliaire, où elle est stockée. La couleur jaune de la bile provient de la bilirubine, produit de dégradation des globules rouges. C'est son relargage dans les selles qui leur donne leur couleur. Le foie synthétise aussi de nombreuses protéines impliquées notamment dans la coagulation du sang (fibrinogène). (3)

1.4. Les maladies du foie

Les principales maladies du foie responsables des niveaux les plus élevés de morbidité et de mortalité sont les hépatites virales (hépatites chroniques B et C), la maladie alcoolique du foie, la stéatose hépatique non alcoolique, la cirrhose et le carcinome hépatocellulaire. Ces maladies représentent plus de 95 % de tous les décès liés aux maladies du foie. Les données démontrent l'incidence croissante de ces maladies. Chaque maladie sera traitée séparément. Lorsqu'il est pertinent de le faire, le mode de prise en charge de l'hépatite B et de l'hépatite C sera comparé à celui du VIH. En effet, le VIH est transmis par les mêmes voies que les hépatites B et C, et cause aussi une infection chronique pouvant entraîner la mort. De plus, comme dans le cas des hépatites B et C, il est possible de le traiter. (4).

1.4.1. Les Hépatites

1.4.1.1. Hépatite aiguë

L'hépatite aiguë est la première phase, de courte durée (quelques semaines), après une atteinte du foie. L'hépatite guérit si le corps a réussi à éliminer le virus (toujours dans l'hépatite virale A, fréquemment dans l'hépatite B, sauf dans de rares cas d'hépatite très sévère) ou après arrêt du médicament responsable ou de l'alcool. Dans d'autres cas, les lésions se poursuivent, on parle alors d'hépatite chronique.

1.4.1.2. Hépatite chronique

Une hépatite chronique apparaît si le corps ne réussit pas à éliminer le virus, et que celui-ci reste dans les cellules du foie où il se multiplie. De même, si la prise d'alcool se poursuit ou bien dans certains cas de maladies immunologiques les lésions du foie sont persistantes.

Les cellules du foie se détruisent progressivement. Elles sont capables de se régénérer. Néanmoins, cette régénération est inefficace et anarchique ; les cellules entourées de "cicatrices" (fibrose) se regroupent en "nodules". L'architecture du foie peut alors complètement changer : c'est ce que l'on appelle la cirrhose.

La cirrhose peut apparaître après de nombreuses années mais parfois plus rapidement si les lésions sont sévères, persistantes ou si plusieurs agents agressifs co-existent. (5)

1.4.2. La cirrhose du foie

1.4.2.1. Qu'est-ce que la cirrhose du foie ?

Le mot cirrhose se rapporte au remplacement des tissus normaux et sains du foie par des tissus cicatriciels non fonctionnels. La cicatrisation entraîne une obstruction de l'écoulement sanguin à travers le foie jusqu'à ce que le foie perde sa capacité de fonctionner. La cirrhose est un état qui a le potentiel de menacer la vie et qui peut causer une insuffisance hépatique.

1.4.2.2. Quelles sont les principales causes de cirrhose ?

Les principales causes de la cirrhose sont :

- L'alcoolisme chronique.
- Les infections virales causées par les virus de l'hépatite chronique (types B, C et D).
- Les troubles métaboliques, comme le déficit en alpha1-antitrypsine, la galactosémie et la glycogénose.
- Des maladies héréditaires, comme la maladie de Wilson et l'hémochromatose.
- La cirrhose biliaire due à des maladies comme la cirrhose biliaire primitive (CBP) et la cholangite sclérosante primitive (CSP).
- L'hépatite toxique causée par des réactions graves à certains médicaments remis sur ordonnance ou par une exposition prolongée à des toxines environnementales
- Des accès répétés d'insuffisance cardiaque avec congestion du foie. (6)

2. Les hépatites virales

2.1. Généralité sur les hépatites virales

L'hépatite est une inflammation du foie, le plus souvent causée par une infection à un virus, mais parfois par l'alcoolisme, ou par une intoxication par un médicament ou par un produit chimique. Les symptômes varient beaucoup d'une personne à l'autre et dépendent de la cause de l'hépatite. Certains types d'hépatite provoquent carrément la destruction d'une partie du foie.

La majorité des hépatites se résorbent spontanément, sans laisser de séquelles. Parfois, la maladie persiste plusieurs mois. Quand elle dure plus de 6 mois, elle est considérée comme chronique. Lorsque le foie est gravement atteint, une greffe de cet organe peut être la seule solution. (7)

Les hépatites virales regroupent les infections provoquées par des virus se développant aux dépens du tissu hépatique. Les virus, une fois inoculés à l'organisme, infectent alors préférentiellement les cellules du foie aussi appelées hépatocytes. Les cellules infectées se voient alors obligées de participer au métabolisme viral, à savoir fabriquer sans fin des copies du virus en question.

L'hépatocyte, gonflé par une production non régulée de virus, finit par exploser, caractérisant ainsi la cytolysse hépatique, avec les perturbations de bilan hépatique habituelles.

Bien que les hépatites A, B et C soient toutes regroupées sous le terme d'hépatite infectieuse (parce qu'elles causent toutes trois des lésions du foie) les virus sont bien différents, ainsi que leurs modalités de transmission, la gravité de la maladie et son potentiel évolutif.

Les virus des hépatites n'ont été isolés que tardivement à la fin du xx^e siècle. On décrit les cinq hépatites virales suivantes A, B, C, D et E. L'existence des virus F et G est encore largement hypothétique et la liste n'est pas encore close.

Ils sont classés schématiquement en deux groupes sur la base de leurs modes de transmission et de leur évolution :

- Le premier comprend les virus des hépatites A (VHA) et E (VHE) à transmission oro-fécale, évoluant par épidémies et caractérisés par l'absence d'infection chronique.
- Le second groupe inclut les virus des hépatites B (VHB), C (VHC), et D (VHD) à transmission parentérale. Ces virus sont caractérisés par le risque d'évolution vers la chronicité, la cirrhose et le carcinome hépatocellulaire. (8)

2.2. Les virus de l'hépatite virale

2.2.1. Le virus de l'hépatite virale A (VHA)

Le virus de l'hépatite A a été identifié pour la première fois en 1973 par Feinstone et ses Collaborateurs par immuno-microscopie électronique dans les selles d'un sujet atteint d'hépatite dite "épidémique". C'est un petit virus de 27 à 30 nm de diamètre, non enveloppé, appartenant à la famille des Picornaviridae, genre Hépatovirus. Son génome est constitué d'une molécule d'ARN simple brin, linéaire, de 7500 nucléotides et de polarité positive. Son organisation génomique est similaire à celle des autres picornavirus: un cadre unique de lecture ouvert codant une polyprotéine, encadré en 5' et en 3' de régions non codantes (NTR). La région 5'NTR, très

structurée, renferme le site interne d'entrée des ribosomes (IRES), essentiel à la traduction de la polyprotéine virale. L'hépatite A est la plus fréquente des hépatites infectieuses aiguës dans le monde. Sa distribution géographique, comme celle de l'ensemble des maladies du péril fécal, varie en fonction des conditions socioéconomiques et du niveau sanitaire du pays. (9)

2.2.2. Le virus de l'hépatite virale B (VHB)

Le virus de l'hépatite B (VHB) fait partie de la famille des Hepadnaviridae, c'est un petit virus composé d'une nucléocapside entourée d'une bicouche lipidique sur laquelle s'insèrent les protéines de surface. Le génome est un acide désoxyribonucléique (ADN), sphérique, partiellement double brin, non fermé de manière covalente. Il existe huit génotypes distincts d'HBV ainsi que de nombreux sérotypes.

L'hépatite B peut aller de la forme asymptomatique à la forme fulminante. L'évolution vers une forme chronique est d'autant plus probable que la phase aigüe a été peu symptomatique exposant au risque de complications graves (Cirrhose, hépatocarcinome, maladies auto-immunes). (10)

2.2.3. Le virus de l'hépatite virale C (VHC)

Le virus de l'hépatite C appartient à la famille des Flaviviridae, il a été identifié en 1989 par les équipes de Michael Houghton. C'est un virus enveloppé de 55 à 65 nm de diamètre, son génome est un ARN monocaténaire linéaire, de polarité positive d'environ 10 000 nucléotides avec deux régions non codantes, situées aux extrémités 5' et 3' du génome et nommées respectivement 5'NC et 3'NC, elles encadrent la partie codante constituée d'un cadre unique de lecture. Ce virus très variable possède six génotypes et de nombreux sous-types dont la distribution varie avec le mode de contamination et la zone géographique. Le VHC est responsable de la majorité des hépatites non A non B à transmission majoritairement parentérale.(11)

2.2.4. Le Virus de l'hépatite virale delta D (VHD)

Le virus de l'hépatite D, habituellement appelé Delta, est le plus petit virus à ARN connu. Il a été découvert en 1977 par Rizotto et ses collaborateurs. Le VHD est un virus déficient qui dépend étroitement du virus B pour sa réplication. Il possède un très petit génome qui est un acide ribonucléique (ARN) circulaire, simple brin d'environ 1680 nucléotides de polarité négative. Le VHD est un petit virus de 37 nm de diamètre. Son enveloppe est formée de membranes lipidiques où sont ancrées les glycoprotéines du VHB qui portent l'antigène HBs A l'intérieur, se trouvent les constituants spécifiques du VHD. La fixation et la pénétration du VHD

se fait grâce aux protéines d'enveloppe dérivées du VHB, alors que la réplication du génome du VHD s'effectue dans le noyau et elle est indépendante du VHB. Le virus de l'hépatite D constitue un modèle de réplication unique dans le monde des virus infectant l'homme.

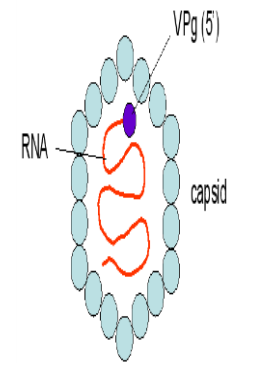
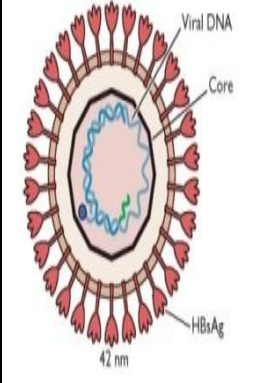
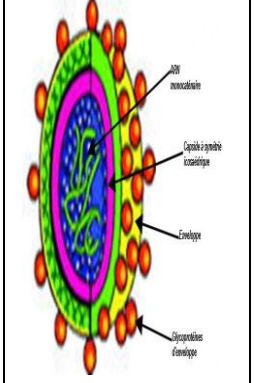
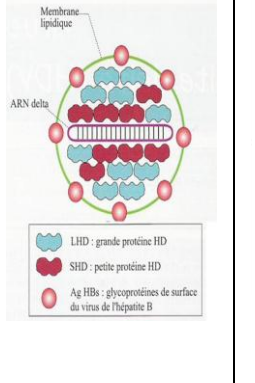
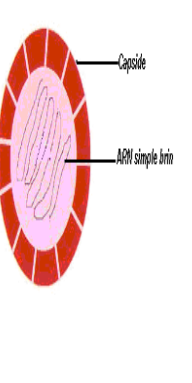
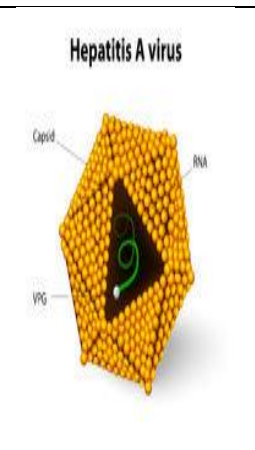
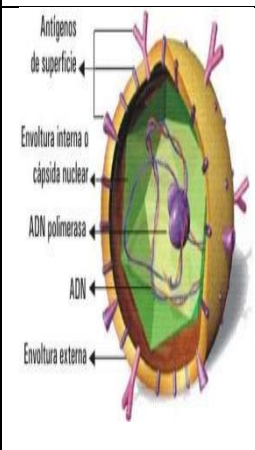
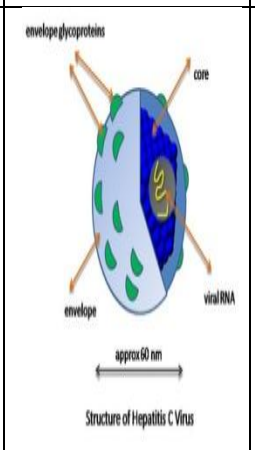
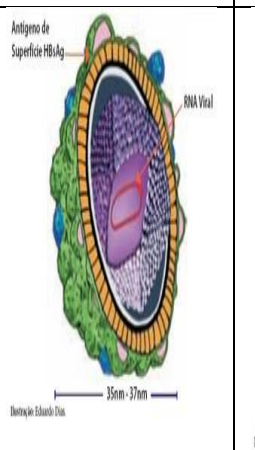

La sur infection par le VHD d'une infection chronique déjà établie par le VHB induit une hépatite aiguë plus sévère qu'en cas de coïnfection concomitante par les deux virus. (12)

2.2.5. Le virus de l'hépatite virale E (VHE)

La caractérisation du virus de l'hépatite E est liée à deux dates majeures: 1983, avec la mise en évidence par Balayan, du caractère filtrable et transmissible de l'agent infectieux responsable d'épidémies d'hépatites aiguës, et 1991 avec la caractérisation moléculaire de cet agent infectieux. Le VHE est un virus à ARN monocaténaire linéaire, de polarité positive d'environ 7,2 kilobases, il est classé actuellement dans la famille des Hepeviridae, et se présente, en microscopie électronique, sous la forme de particules sphériques, non enveloppées de 27 à 34 nm de diamètre avec quatre génotypes différents (I à IV). L'ARN est coiffé en 5' (7 méthyl guanine) et polyadénylé en 3'. Il comporte trois phases ouvertes de lectures (ORF1, ORF2 et ORF3) flanquées de régions non codantes en 5' et 3'.

La transmission du virus de l'hépatite E (VHE) se fait principalement par voie entérale, et les conditions précaires d'hygiène contribuent à la forte prévalence de l'infection dans les régions endémiques. Dans les pays développés et non endémiques, les cas sporadiques d'hépatite E sont liés à un séjour en zone endémique mais aussi à des cas autochtones. La présence d'un réservoir animal du virus peut également constituer une source de contamination. (13)

2.3. Comparaison entre les virus d'hépatite (Tableau 1). (14)

Propriétés	<u>Hépatite A</u>	<u>Hépatite B</u>	<u>Hépatite C</u>	<u>Hépatite D</u>	<u>Hépatite E</u>
Transmission	Transmission or-fécale (injection de sang ou d'autre liquides contaminés)	Voie parentérale injection de sang ou d'autre liquides contaminés) et aussi le contact sexuel	Voie parent-rôle	Voie parentérale	Transmission or-fécale
Agent causel	ARN monocaténaire sans enveloppe	ADN bi caténaire enveloppé	ARN monocaténaire sans enveloppe	ARN monocaténaire sans enveloppe provient du virus de l'hépatite B	ARN monocaténaire sans enveloppe
Traitement	Vaccin inactivés, les immunoglobulines offrent une protection temporaire	Vaccin produit par manipulation génétique de levures	aucun	Le vaccin contre le VHB offre une protection contre l'infection car la coinfection est nécessaire	A l'étude
Structures de la particule virale de virus					
Structure de virus					

2.4. Classification en caractéristique clinique et biologique des virus d'hépatite humains (Tableau 2). (14)

Propriété	VIRUS A	VIRUS B	VIRUS C	VIRUS D	VIRUS E
Famille	Picornaviridae	Hepadnavirus	Flavivirus	Satellites	En attente de
Découverte	1973 Feinstone	1963 Blumberg	1989 Houghton	1977 Rizzeto	1989 Bradley
Genre	hépato virus	Ortho hepadnavirus	Hepacivirus	delta virus	Classification
Taille des virons (nm)	28	42	40-60	36	34
Génome	ARN	Adnés/dB, c	ARN	ARN ⁻ C	ARN
Taille	7.5	3.2	9.3	1.7	7.4
Protéine d'enveloppe	Non	Aghas, L, m, S	E1, E2	Aghas, L, m, S	Non
Protéine de capside	VP1-VP4	Aghas	Coré	AGCD	ORF-2
Transmission	Oro-fécale	parentérale	parentérale	parentérale	Or-fécale
Titre maximum	10 ⁹ /ml	10 ⁹ /ml	10 ⁶ /ml	10 ¹¹ /ml	?
Prévalence	Elevée	Elevée	Modérée	Faible et régionale	Régionale
Evolution fulminante	Rare	Rare	Rare	Habituelle	Grossesse
Portage chronique	Non	Fréquent	Très Fréquent	Très Fréquent	Non
Carcinome Hépatocellulaire	Non	Oui	Oui	Oui	Non
Traitement	Non	Interféron et lamivudine	Interféron Ribavirine	Interféron	Non

Chapitre : 2

L'insuffisance rénale

L'hémodialyse

1. Les reins et les maladies rénales

1.1. Les reins

Les reins sont deux organes situés dans la partie postérieure de l'abdomen au niveau des régions lombaires, effectuant de très nombreuses fonctions dans l'organisme.

Situés de chaque côté de la colonne vertébrale, en partie cachés par les dernières côtes, chacun des 2 reins mesure 12 cm de haut sur 6 cm de large, grossièrement de la taille d'un poing avec une forme de haricot. Chaque rein pèse environ 150 grammes.

-Le rein droit est situé en arrière du foie.

-Le rein gauche est en arrière du pancréas et du pôle inférieur de la rate

Bien qu'il soit possible de vivre normalement suite à l'ablation d'un rein, ces organes assurent néanmoins des fonctions essentielles comme l'élimination de déchets toxiques après filtration du sang, qui seront évacués dans l'urine.

Après son passage au niveau du néphron, unité structurelle du rein permettant cette filtration du sang, l'urine primaire qui en résulte va circuler alors dans différents conduits, perméables à des substances différentes, et sous l'influence d'hormones et de la composition de l'urine primaire, une réabsorption d'eau et d'autres molécules sera possible pour générer l'urine à proprement parler qui sera alors déversée dans l'uretère, conduit rejoignant la vessie. Les reins permettent également de réguler l'équilibre hydrique, la teneur en eau de l'organisme et de nombreuses autres molécules du corps, et sécrètent des hormones nécessaires notamment pour réguler la pression artérielle et stimuler la production des globules rouges par la moelle osseuse.

(15)

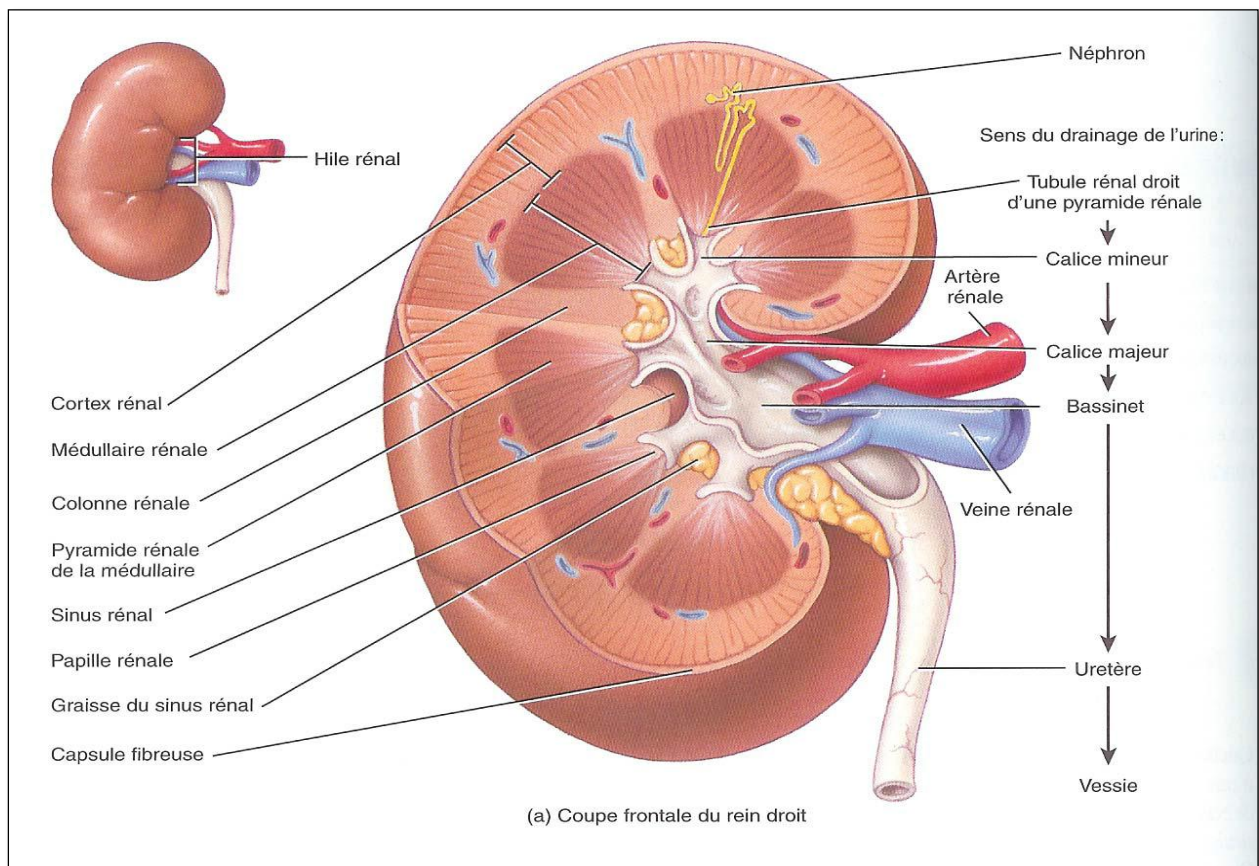


Figure 02 : Anatomie du rein. (16)

1.2. Les insuffisances rénales

L'insuffisance rénale est définie comme une diminution du pouvoir épurateur des reins et correspond donc à une diminution du nombre de néphrons fonctionnels.

En pratique, elle se manifeste avant tout par une diminution de la clearance de créatinine. Il faut, cependant, savoir que chaque néphron a un pouvoir d'adaptation tel qu'il peut largement modifier son débit glomérulaire selon la demande (ce qui explique que les valeurs normales de clearance de créatinine peuvent passer du simple au double). C'est ainsi que lorsqu'un néphron n'est plus fonctionnel, son voisin peut à lui seul entièrement compenser cette déficience. Une diminution de 50% du nombre de néphrons fonctionnels n'aura donc aucune expression biologique. L'exemple le plus caractéristique est celui des individus porteurs d'un rein unique à la suite d'un don d'organe : la clearance de créatinine reste dans les limites de la normale.

Une insuffisance rénale ne deviendra donc biologiquement manifeste que lorsque la masse néphrotique fonctionnelle est réduite de plus de 60%.

-On définit deux types d'insuffisance rénale :

- 1-L'insuffisance rénale chronique.
- 2-L'insuffisance rénale aiguë. (2)

1.3. Les fonctions des reins

Le rein a différentes fonctions

1.3.1. L'épuration

Le premier rôle du rein est d'éliminer l'eau et les substances, en particulier les déchets, dont l'organisme veut se débarrasser.

1.3.2. La fabrication

De plusieurs hormones Le rein est aussi un organe qui fabrique des hormones. La rénine qui maintient la tension artérielle. L'érythropoïétine (EPO), indispensable pour stimuler la formation des globules rouges du sang. La vitamine D, utile pour absorber et fixer le calcium donc pour les os.

1.3.1. Fonction d'épuration et de régulation du milieu intérieur

Cette fonction permet de maintenir l'équilibre intérieur de l'organisme en équilibrant les entrées et les sorties de l'eau, des électrolytes (potassium, sodium, chlore, bicarbonates...), de l'azote (apporté sous forme de protéines par l'alimentation et éliminé sous forme d'urée, de créatinine et d'acide urique). Elle permet aussi d'éliminer de multiples autres substances, toxiques ou médicamenteuses par exemple. L'urine est fabriquée par deux opérations successives :

Ce sont les glomérules qui filtrent le plasma sanguin par un mécanisme appelé filtration glomérulaire pour le transformer en urine dite primitive : l'eau, les électrolytes, les substances dissoutes de faible taille et de poids peu élevé passent à travers la paroi du capillaire glomérulaire, qui retient les substances de poids élevé (les protéines).

Cette urine primitive, est ensuite transformée tout au long du tubule, qui modifie considérablement son volume et sa composition. Ainsi, le rein ajoute certaines substances qu'il a sécrétées, comme l'ammoniac, c'est la sécrétion tubulaire, ou en reprend d'autres. Les tubules sont en particulier chargés de réabsorber l'eau à 99 %, et presque le même pourcentage des électrolytes contenus dans l'urine (sodium, chlore, calcium, phosphore, potassium, magnésium, bicarbonates), c'est la réabsorption tubulaire.

1.3.2. Fabrication de la rénine

Le rein sécrète une hormone, la rénine, qui joue un rôle essentiel dans la régulation de la pression artérielle. La rénine entraîne, à partir d'une protéine hépatique, l'angiotensinogène, la formation d'angiotensine I, elle-même transformée en angiotensine II grâce à l'enzyme de conversion de l'angiotensine.

L'angiotensine I a un double rôle :

Vasoconstriction intense des artéioles (diminution du diamètre des petites artères périphériques), qui entraîne l'augmentation de la pression artérielle. Stimulation de la sécrétion d'Aldostérone. L'Aldostérone est une hormone fabriquée par les glandes surrénales qui interviennent dans l'élimination rénale du sodium (sel), en la diminuant. Sécrétion de l'érythropoïétine Cette hormone, désormais bien connue grâce aux cyclistes, stimule la fabrication des globules rouges du sang. Elle est fabriquée dans les reins et est donc diminuée ou absente chez l'insuffisant rénal, pouvant alors contribuer à la constitution d'une anémie.

- Activation de la Vitamine D

La vitamine D, qui est fabriquée sous la peau, est transformée en produit actif par le rein. Son rôle est de permettre l'absorption du calcium alimentaire par l'intestin et sa fixation sur l'os. Les reins interviennent donc dans le maintien d'une bonne structure osseuse. (17)

2.La dialyse

La dialyse est une technique médicale permettant de supplanter les reins qui ne peuvent plus effectuer leur travail en cas d'insuffisance rénale très avancée. La dialyse permet de filtrer le sang de ses déchets normalement éliminés par le rein avant de le réinjecter dans la circulation et de contrôler les volumes liquidiens du corps. Elle peut être pratiquée plusieurs fois par semaine en milieu hospitalier en cas d'insuffisance rénale terminale (lorsque la clairance de la créatinine est inférieure à 10ml par minute). On parle d'hémodialyse. La dialyse péritonéale, autre technique parfois utilisée, peut être gérée à domicile par le patient lui-même et consiste en l'utilisation du péritoine en guise de filtre. La dialyse est un traitement très lourd. Elle est arrêtée après la greffe d'un nouveau rein fonctionnel. (18)

3. L'HEMODIALYSE

L'hémodialyse est un mot d'origine grecque composé des mots hémô qui signifie sang et dialyse qui signifie séparation. L'hémodialyse est un traitement médical qui permet d'éliminer les déchets toxiques du sang en faisant passer celui-ci par un filtre. Ce système est également connu sous le nom de rein artificiel. Le sang est pompé hors de l'organisme à l'aide d'une aiguille spéciale puis passe ensuite dans une machine munie d'un filtre spécialement étudié (le dialyseur) et revient dans le corps par une autre aiguille. Les molécules nocives qui ne sont plus éliminées par les reins et qui restent dans le sang sont capturées par le filtre et l'organisme est ainsi purifié. En général, un patient doit se faire dialyser trois fois par semaine à raison de trois ou quatre heures par séance. Très souvent, il existera un délai compris entre plusieurs semaines et plusieurs années entre la découverte de la maladie rénale et la prise en hémodialyse. Cette période sera utilisée pour vous confectionner un accès vasculaire. (19)

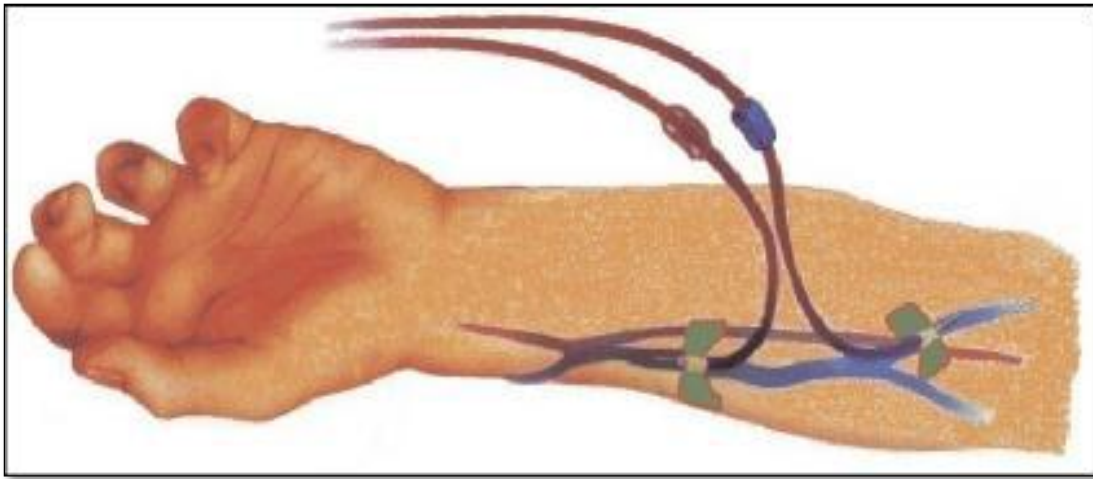


Figure 03: L'hémodialyse est une méthode d'épuration du sang par la création d'un circuit de circulation extracorporelle et son passage dans un dialyseur. (19)

3.1. Quand faut-il débiter les hémodialyses ?

Les reins sont des organes indispensables à la vie mais ce n'est que lorsque la fonction des deux reins est très diminuée, inférieure à 5% de la normale, que les épurations extra rénales deviennent indispensables. Avant ce stade, même avec des reins malades, un régime alimentaire bien calculé et des médicaments permettent de vivre sans dialyse. Avec un seul rein, l'organisme est normalement épuré. Les deux reins sont toujours atteints lorsqu'il existe une mauvaise épuration. C'est dans ces cas qu'on parle d'insuffisance rénale.

Lorsque la filtration des reins diminue, de nombreuses substances normalement éliminées dans les urines s'accumulent dans le sang. On utilise le taux de créatinine pour évaluer l'insuffisance rénale : plus le chiffre est élevé, plus la filtration est diminuée donc plus l'insuffisance rénale est sévère. Le taux urée est moins utilisé car il dépend beaucoup de l'alimentation et est moins précis. De façon simple, il est raisonnable de débiter des dialyses, lorsque la créatinine dépasse 700 à 800 $\mu\text{mol/l}$ chez les grands enfants et 400 à 600 $\mu\text{mol/l}$ chez les plus jeunes. Mais cela peut varier selon les situations.

Il faut savoir, d'autre part, que chez les enfants présentant une insuffisance rénale sévère, justifiant le recours à la dialyse, certains continuent à faire pipi de façon abondante, alors que d'autres n'ont plus ou presque plus d'urines. (20)

3.2. Hémodialyse et immunosuppression

La susceptibilité des patients urémiques aux infections n'est pas expliquée seulement par une exposition accrue au risque infectieux. Des troubles de l'immunité participent à ce phénomène. Ils avaient été évoqués dès 1957 par Dammin.

Il existe un véritable état d'immunosuppression secondaire à l'insuffisance rénale chronique qui touche aussi bien l'immunité innée que l'immunité acquise. Les déficits de la phagocytose et de la fonction cytolitique jouent un rôle important dans les anomalies de l'immunité innée. Une régulation inhibitrice des cellules T et une présentation antigénique défectueuse semblent principalement impliquées dans les déficits de l'immunité adaptative. De nombreux facteurs participent aux anomalies immunitaires: les toxines urémiques, la circulation extracorporelle, les traitements (fer et héparine), le climat cytokinique. Ainsi, l'augmentation de la susceptibilité aux infections des sujets urémiques ne s'explique pas par un seul déficit immunitaire identifiable, mais par la conjonction de nombreuses anomalies mineures, difficiles à mettre en évidence séparément, et qui touchent à la fois l'immunité humorale et cellulaire, innée et acquise. Physiopathologiquement on incrimine: -La rupture de la barrière cutanée

-L'immunodépression

-Altération de l'immunité humorale non corrigée par l'hémodialyse: taux d'immunoglobulines inchangé (mais activité diminuée), augmentation des auto anticorps...

Altération de l'immunité cellulaire aggravée par l'hémodialyse, avec activation cellulaire paradoxale par le passage dans la membrane de dialyse

-La présence éventuelle d'un dispositif intra vasculaire:

- Le cas d'un cathéter ou d'un shunt artérioveineux.

- Le cas d'une fistule artério-veineuse, le risque est surtout celui des erreurs d'asepsie lors de la ponction. (19)

3.3. Principe de l'hémodialyse

Deux principes physiques règlent ce passage d'eau et de molécules à travers une membrane : la diffusion et l'ultrafiltration

3.3.1. La diffusion

Le transfert des solutés par diffusion au travers de la membrane de dialyse relève d'un mouvement des molécules contenues dans la solution.

Si la molécule rencontre un pore dont la taille correspond à la sienne, elle traversera la membrane.

Le gradient de concentration du soluté de part et d'autre de la membrane est le déterminant principal de la diffusion des molécules : plus la solution a une concentration élevée plus les molécules traversent la membrane en direction de la solution dont la concentration en solutés est la plus basse.

Les déchets de bas poids moléculaire (urée, créatinine, potassium, etc.) qui s'accumulent dans le sang du malade entre deux séances, sont éliminés avec le dialysat en fin de séance.

Le transfert des solutés du sang vers le dialysat est rapide, la concentration en calcium dans le dialysat étant plus élevée que celle du calcium ionisé dans le sang, la séance permet un transfert de calcium vers le sang du malade (le calcium lié aux protéines ne diffuse pas). Il en est de même pour le bicarbonate.

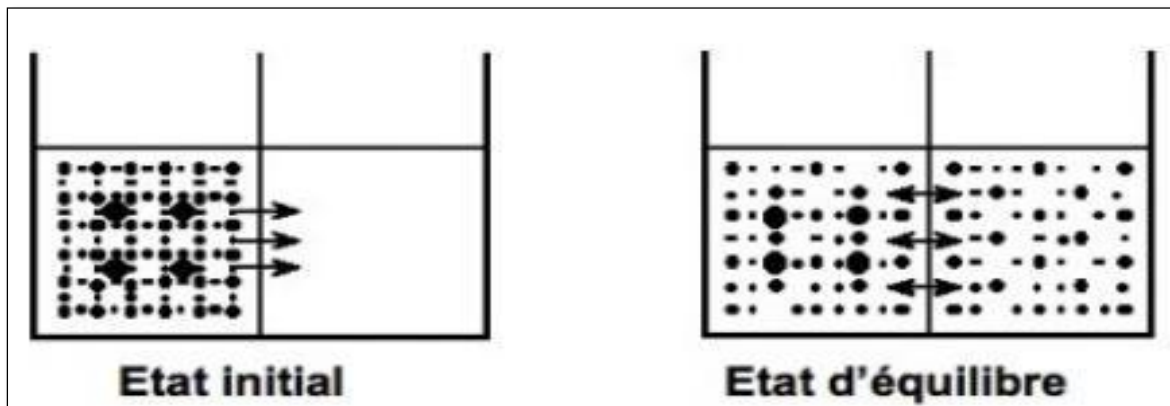


Figure 04 : De solutés par transfert diffusion. (21)

3.3.2. L'ultra filtration

C'est un autre mode de transfert que l'on appelle aussi convection. Ici, c'est le solvant ainsi qu'une partie des solutés qu'il contient qui sont transportés sous l'effet d'une pression hydrostatique (pour l'hémodialyse) ou osmotique (pour la dialyse péritonéale).

Le débit de filtration du solvant dépend de la perméabilité hydraulique de la membrane, de la surface de la membrane ainsi que la pression transmembranaire efficace. Cette dernière est obtenue en faisant la différence entre le gradient de pression hydrostatique transmembranaire, qui tend à faire passer l'eau du sang vers le dialysat, et la pression osmotique, qui s'apparente en fait à la pression oncotique : elle a tendance à faire passer l'eau du dialysat vers le compartiment sanguin

En effet, les protéines ne traversant pas la membrane de filtration, l'osmolarité du sang augmente au fur et à mesure qu'il est filtré, et cela engendre un appel d'eau par osmose ; mais cette dernière reste cependant largement compensée par la pression hydrostatique transmembranaire. (21)

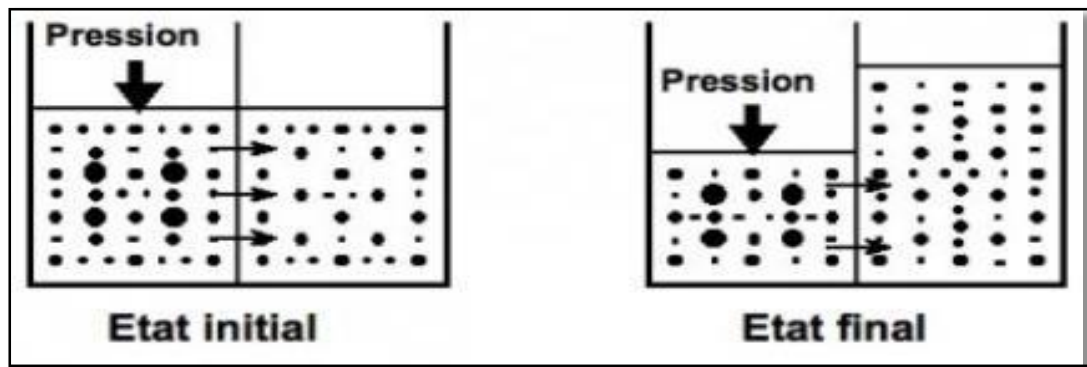


Figure 05: Transfert d'eau et de solutés par convection. (21)

3.4. Le matériel nécessaire

Pour hémodialyser, il faut

- De l'eau,
- Une machine d'hémodialyse
- Des poches de solutions concentrées contenant le sel, le calcium, et les diverses substances qui doivent être mélangées à l'eau pour fabriquer le dialysat
- Des tubulures dans lequel le sang circule
- Un hémodialyseur qui contient la membrane de dialyse. (20)



Figure06 : La machine de l'hémodialyse. (22)

3.5. Risque infectieux en hémodialyse

L'hémodialyse est un acte invasif et impose un accès vasculaire itératif, soit sur fistule artérioveineuse native ou prothétique, soit sur cathéter veineux central. Toute séance d'hémodialyse comporte le risque de transmission d'un micro-organisme pathogène à chaque niveau du processus d'épuration : eau de dialyse, solutions concentrées, générateur, lignes et

accès vasculaires. De plus, le patient insuffisant rénal chronique est régulièrement hospitalisé avec de fréquents recours à la chirurgie

Les risques infectieux sont de deux types :

1-Bactérienne

2-Virale. (22)

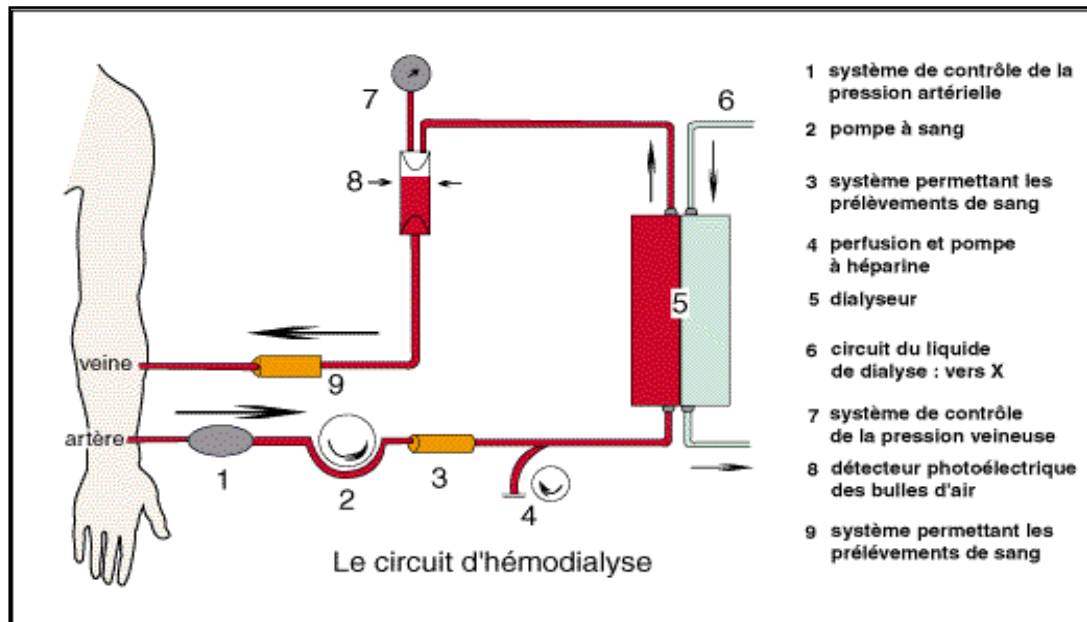


Figure 07 : Le cite de risque en hémodialyse. (22)

3.5.1. Infections bactériennes

Les infections bactériennes que l'on observe chez les patients dialysés peuvent être de tout type (infections du site d'insertion, tennellites, bactériémies, fungémies, péritonites, infections métastatiques ostéoarticulaires, endocardites...) mais en hémodialyse, deux d'entre elles sont d'importance prédominante en termes de morbidité et mortalité et font l'objet prioritairement de surveillance épidémiologique. Ce sont les infections sur accès vasculaires (IAV), les bactériémies (BAC) considérées comme des indicateurs de la qualité des soins.

En hémodialyse chronique, les infections bactériennes représentent la seconde cause de mortalité après les accidents cardiovasculaires, et restent un enjeu de santé publique. Les bactériémies restent la première cause de décès par infection suivies par les infections de site d'accès. (23)

3.5.2. Infections virales

Les risques d'infections virales sont cliniquement représentés par deux virus hématogènes que sont le virus de l'hépatite B (VHB), de l'hépatite C (VHC).

Pour le VHB et le VHC, les risques de contamination sont représentés par la contamination interne du générateur (notamment avant les mesures de sécurisation des capteurs de pression) mais surtout, la contamination externe du générateur et des surfaces, les injections et les manipulations de flacons multidoses avec la réutilisation de matériels, le manque de respect des précautions standard d'hygiène. Par rapport à la population générale, le groupe des patients hémodialysés conserve une prévalence de l'hépatite C plus élevée, avec un gradient Nord Sud et une hétérogénéité entre les différentes unités de dialyse. Les séroconversions de novo sont particulièrement suivies et analysées.

Bien que les manifestations cliniques soient moins sévères, la survie du patient dialysé porteur du virus de l'hépatite C est diminuée même après transplantation.

Contrairement au temps passé en dialyse (propre à la technique de dialyse), les autres facteurs de risques restent comparables à ceux de la population générale en raison :

- de la sécurisation de la transfusion sanguine,
- de l'utilisation des agents stimulants l'érythropoïèse pour limiter les transfusions,
- du respect des mesures d'hygiène universelle associées aux protocoles de soins comme moyens de lutte contre les transmissions croisées
- du traitement bien qu'imparfait des patients ayant eu une séroconversion mise en évidence suite aux dépistages systématiques recommandés.

L'hépatite B présente des mécanismes de transmissions et des facteurs de risques similaires à ceux de l'hépatite C. La lutte contre ces facteurs de risque, renforcée par la vaccination des personnels de santé et des patients exposés a également permis une diminution de l'incidence des séroconversions mais il persiste des occurrences épidémiques. (24)

Chapitre : 3
Les hépatites virales
B chez
l'hémodialysé

1. Généralité sur le virus

1.1. Qu'est-ce que l'hépatite B?

L'hépatite B est une inflammation du foie résultant d'une infection par le virus de l'hépatite B. La notion d'hépatite B est un concept assez vaste, qui peut être utilisé de différentes manières. Cela conduit souvent à des confusions. Par conséquent, il est important que les principaux phénomènes intervenant au cours d'une infection par le virus de l'hépatite B et leurs éventuelles complications pathologiques soient bien compris et distingués les uns des autres. Selon des critères temporels stricts, on distingue une phase aiguë au début de l'infection et une phase chronique qui intervient par la suite. (25)

1.2. Historique

En 1964, Baruch Samuel BLUMBERG, médecin et biochimiste américain travaillant pour le National Institute of Health, s'intéresse à la variabilité antigénique entre les individus et au sein des différentes populations. Il émet l'hypothèse selon laquelle des patients ayant reçu un anticorps contre les antigènes qu'ils ne possèdent pas. Il met en présence des échantillons de sang de patients polytransfusés avec des sérums de personnes indemnes de toute transfusion. Il observe alors, en immuno- diffusion, une ligne de précipitation pour chaque système antigène- anticorps révélé.

Ensuite, il remarque qu'un échantillon sanguin d'un patient hémophile polytransfusé présente la caractéristique de former une ligne de précipitation originale avec un seul sérum, celui d'un Aborigène Australien. Ce sérum contient donc un antigène qui n'existe pas dans les autres lots ; BLUMBERG le baptise : « Antigène Australia ». Ses travaux consistent alors à établir la répartition de cet antigène dans diverses populations : un sérum sur 1000 est positif en Amérique du Nord contre 15 sérums sur 100 dans certaines îles du Pacifique ; il existe donc une variabilité dans la distribution de cet antigène. Reste à trouver l'origine de ce portage antigénique

En 1966, le changement de statut sérologique d'un patient initialement dépourvu d'antigène Australia renforce l'hypothèse d'une infection par un agent viral et ce patient a présenté une hépatite pendant la période de séroconversion. Ceci conduit à tester de nombreux échantillons de sang de patients aux antécédents d'hépatite. A la fin de l'année 1966, la preuve est faite que le portage de l'Antigène Australia est lié à une hépatite virale. BLUMBERG établit un protocole de dépistage du sang destiné aux transfusions, éliminant tous les lots porteurs de l'antigène; rapidement une nette diminution du nombre d'hépatite post-transfusionnelle est constatée

En 1970, D.S. Dane identifiait en microscopie électronique, dans le sérum de malades porteurs de l'antigène Au, des particules en cocarde de 42nm de diamètre (les particules de Dane), qui devaient ultérieurement être considérées comme les particules virales infectieuses du virus de l'hépatite B. (26)

1.3. Classification

Le virus de l'hépatite B (HBV) constitue le plus petit virus animal enveloppé à acide désoxyribonucléique (ADN de 3200 paires de bases).

Le VHB est le prototype d'une famille de virus hépatotropes à (ADN) : Les **Hepadnaviridae**.

La famille des Hepadnaviridae constitue avec celle des Caulimoviridae le groupe du para rétrovirus dont le génome est constitué d'un ADN circulaire partiellement double brin. Ils possèdent une polymérase qui est une ADN polymérase ARN dépendante et ADN dépendante (transcriptase inverse) associée à une ARNase H La famille des Hepadnaviridae regroupe deux genres: Orthohepadnavirus et Avihepadnavirus. (27)

1.4. Structure du VHB

Le virus de l'hépatite B possède une structure très complexe dont la connaissance est nécessaire, car le diagnostic virologique indirect repose sur l'identification des Ag et des Ac correspondant aux différentes parties de sa structure. (28)

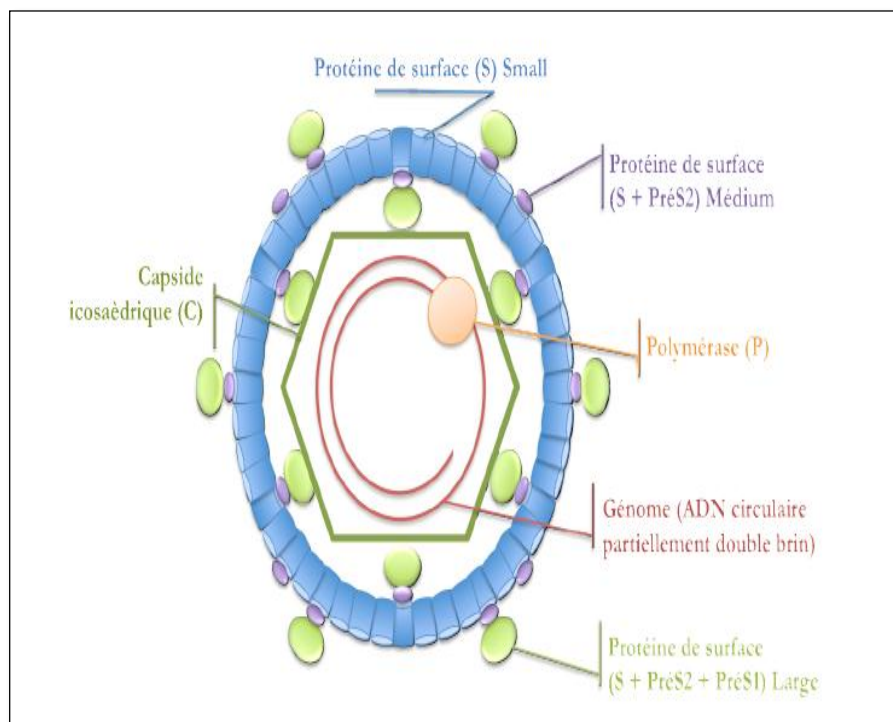


Figure 08 : Structure du virus de l'hépatite B. (29)

Le virus de l'hépatite B est une particule infectieuse que l'on trouve L'examen du sang infecté par le VHB à l'aide du microscope électronique montre l'existence des trois formes suivantes (voir figure 08)

- 1 - Des particules dites subvirales qui sont de formes sphérique ou filamenteuse.
- 2 - Des particules virales complètes ou particules de DANE qui représente le virion complet

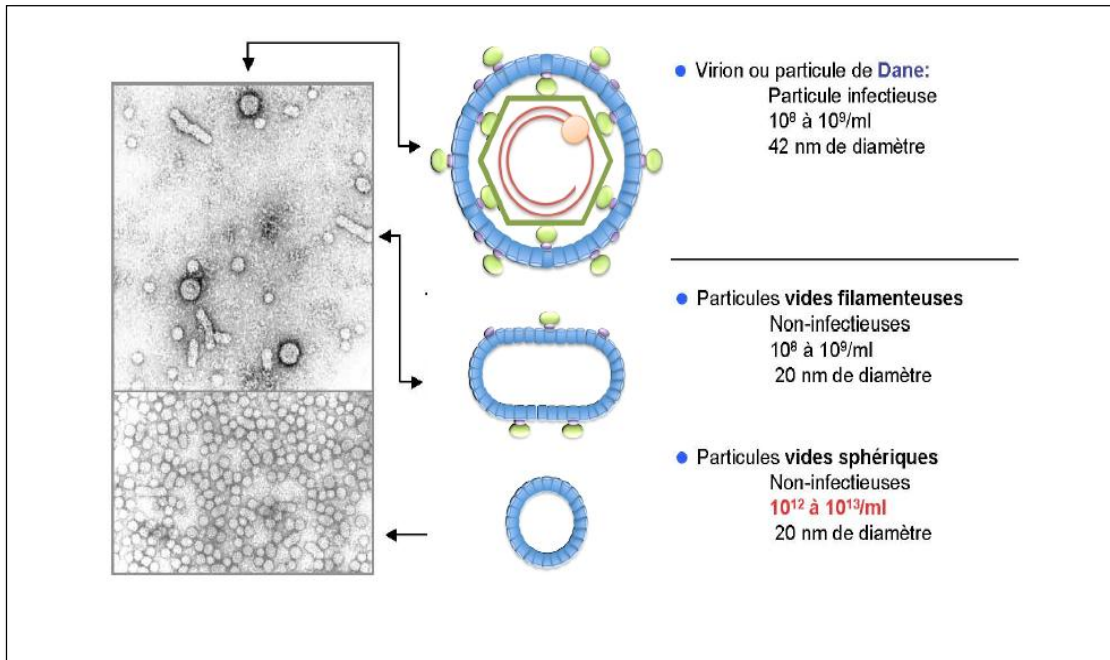


Figure 09 : Particules virales sériques circulants du virus de l'hépatite B. (29)

1.4.1. Particules subvirales

Les particules subvirales sont des enveloppes lipoprotéiques vides constituées de lipides d'origine cellulaire et d'antigènes viraux de surface (AgHBs), elles peuvent être de formes sphériques ou filamenteuses :

Les particules sphériques de 22 nm de diamètre constituant l'AgHBs synthétisés en excès.

Les particules filamenteuses résultants des particules sphériques mises bout à bout, elles sont de 40 à 400 nm de diamètre, composé d'une nucléocapside entourée d'une bicouche lipidique dans laquelle sont insérés des protéines de surface.

Le titre des particules subvirales dans le sérum des patients peut atteindre un niveau 10000 fois supérieur à celui des virus complets. (30)

1.4.2. Particules virales complètes

Le virion complet ou particule de DANE est une particule sphérique de 42 à 47 nm de diamètre, il est constitué :

D'une enveloppe formée d'une bicouche lipidique d'origine cellulaire, à la surface de laquelle sont ancrées trois protéines virales de taille croissantes ; S (protéines majeures), M (protéine moyenne) et une grande protéine dite L-D'une nucléocapside centrale de 27 nm de diamètre, que l'on peut extraire par des détergents (Tween 80), elle est formée de protéines antigéniques portant L'Ag de capsid, AgHBc et l'AgHBe et à l'intérieur on trouve le génome du VHB

D'une polymérase virale du VHB qui possède une activité de transcription inverse et une activité d'ADN-polymérase. L'activité de l'enzyme ne s'exprime dans la cellule infectée, qu'à l'intérieur de nouvelles capsides virales. (30)

1.5. Organisation génomique

Le VHB est un virus enveloppé qui possède le plus petit génome de tous les virus animaux connus. Ce génome est un acide désoxyribonucléique (ADN), de 3200 paires de bases (pb), circulaire, partiellement double brin et non fermé de manière covalente. Cette configuration circulaire est maintenue par un appariement des extrémités 5' des deux brins, de longueur différente: un brin long et complet (brin moins) qui contient la totalité du patrimoine génétique du virus et un brin incomplet (brin plus) non codant et de taille variable, allant de 50 à 80 % de la longueur du brin long. Cette structure particulière est liée au mécanisme de répllication spécifique de ce virus. Son organisation génétique est très compacte avec quatre cadres de lecture ouverts: S, C, P, et X (figure 10). (31)

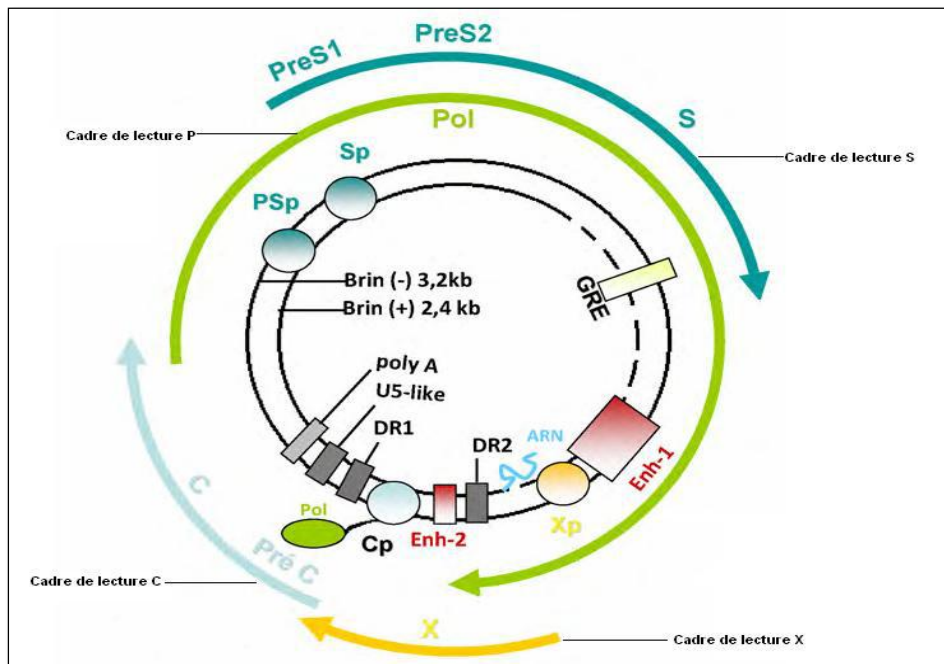


Figure 10: Organisation du génome du VHB et phase de lecture. (95)

Le chevauchement des gènes et l'utilisation de codon d'initiation de transcription alternatifs permettent la synthèse de 7 protéines virales distinctes et expliquent la petite taille du génome du virus. (31)

La région S : Code pour les protéines d'enveloppe: il est composé du gène S, de la région pré S1 et de la région pré S2. Le gène S code pour l'Ag de surface HBs, et les régions préS1 et S2 codent pour les antigènes de surface préS1 et préS2. Ces protéines d'enveloppe se présentent sous trois formes: petite, moyenne et grande, de 24, 33 et 39 kDa, selon qu'elles viennent de l'expression du gène S, de pré-S2 + S, ou pré-S1+ pré-S2 + S.

Les protéines de surface sont synthétisées largement en excès par les hépatocytes infectés, seule une faible proportion participe à la formation des nouvelles particules virales infectieuses la majorité d'entre elles formant des particules vides. (32)

La région C : La région C est composée du gène C qui code pour la protéine de capsid de 22 kDa et d'une région pré-C codant pour une protéine non structurale de 17 kDa encore appelée AgHBe.

La région P : La région P code pour l'ADN polymérase virale de 82 kDa et recouvre 80 % du génome. Cette enzyme possède à la fois des activités de transcriptase inverse, d'ADN polymérase ADN-dépendante et de RNase H.

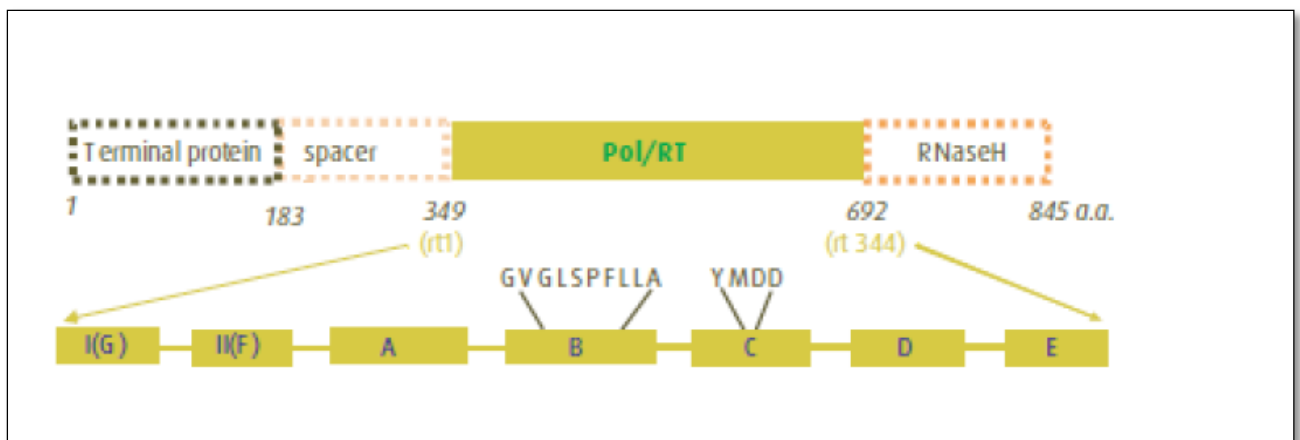


Figure11: Représentation schématique de la structure de l'ADN polymérase du VHB. (68)

La région X : Code pour un polypeptide de 145 à 154 acides aminés (dépendant du soustype du virus). Ce polypeptide X est une protéine transactivatrice du génome viral et cellulaire, et est possède également un potentiel oncogénique. (33)

1.6. Cycle de Réplication Du VHB

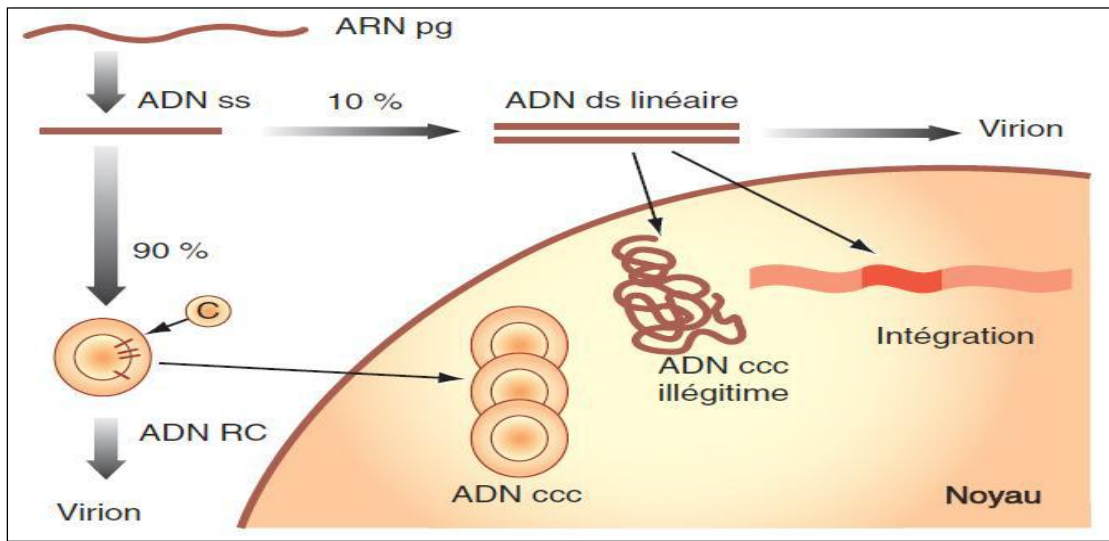


Figure 12 : Réplication du génome viral. (94)

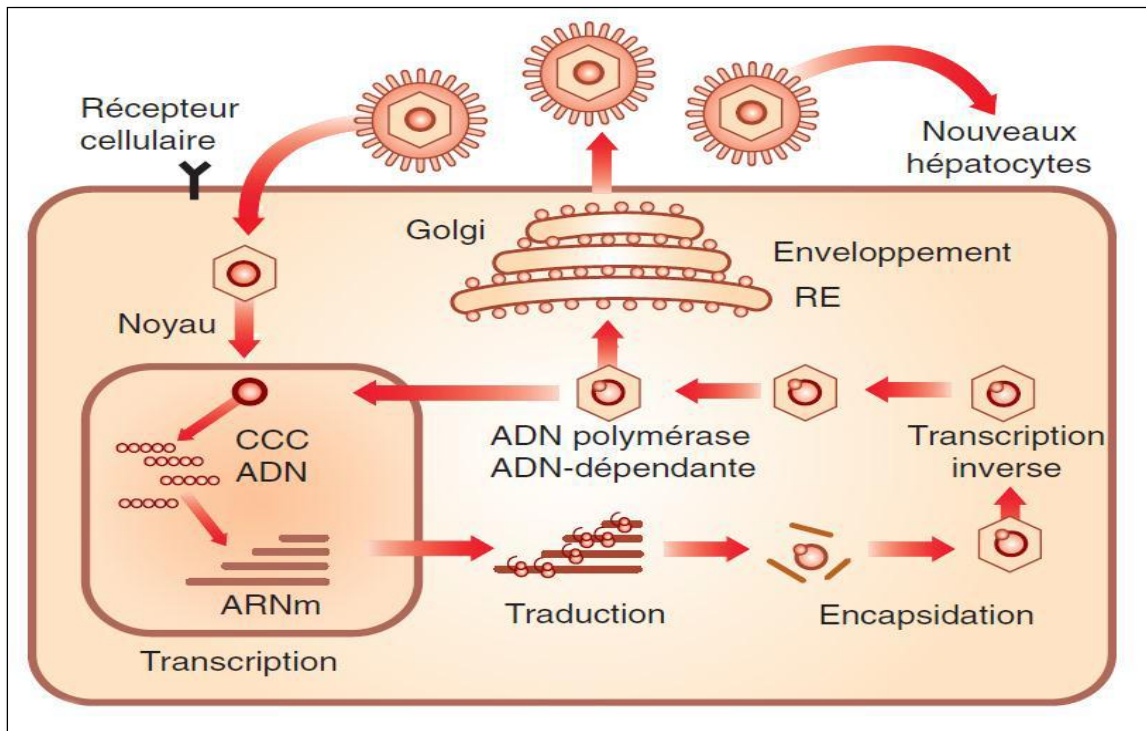


Figure 13 : Représentation simplifiée du cycle de réplication du VHB. (94)

La réplication virale, élément capital dans la décision thérapeutique pour l'hépatite B se caractérise par la positivité de l'ADN du virus

-Le cycle d'infection par le VHB comporte deux phases:

1-Phase de réplication complète : qui se déroule dans les cellules hépatiques avec libération de virion dans le sérum. Elle se traduit par une double antigénémie AgHBs et AgHBe. a cette phase ; le sujet atteint est très contaminant.

2 - Phase de réplication incomplète ou phase d'intégration ; au cours de laquelle l'ADN du virus s'intègre à l'ADN chromosomique hépatocytaire une recombinaison génétique est alors réalisée avec reprogrammation des hépatocytes qui deviennent capables de produire l'AgHBs. Cette phase ne s'accompagne plus de production de virion complet ni de l'expression d'AgHBe/c sur les membranes hépatocytaires donc l'infection est absente. (26)

La multiplication du VHB commence par L'attachement du virus sur la cellule cible (hépatocyte), et la fixation se fait par interaction entre l'antigène préS1 côté virus et par l'albumine humaine polymérisée côté hépatocyte. La nature du récepteur de l'HBV n'est, toutefois, pas encore déterminée.

Lors de son entrée dans l'hépatocyte le virus perd son enveloppe. La capsidite rejoint le noyau de l'hépatocyte et désassemble pour libérer son ADN.

Dans le noyau, l'ADN polymérase virale associée au virion ; complète l'ADN génomique partiellement bicaténaire en ADN bicaténaire circulaire sur-enroulé appelée ADNccc (covalently closed circular DNA). Celui-ci est transcript par l'appareillage cellulaire en ARN messagers, traduits en 4 protéines (AgHBs, AgHBc, ADN polymérase et protéine X), et en ARN pré-génomique, particularité de l'HBV, qui est rétrotranscript par l'ADN polymérase en nouvel ADN génomique. Lors de son entrée dans l'hépatocyte le virus perd son enveloppe. La capsidite rejoint le noyau de l'hépatocyte et désassemble pour libérer son ADN. Dans le noyau, l'ADN polymérase virale associée au virion ; complète l'ADN génomique partiellement bicaténaire en ADN bicaténaire circulaire surenroulés appelée ADNccc. Celui-ci est transcript par l'appareillage cellulaire en ARN messagers, traduits en 4 protéines (AgHBs, AgHBc, ADN polymérase et protéine X), et en ARN pré-génomique, particularité de l'HBV, qui est rétrotranscript par l'ADN polymérase en nouvel ADN génomique.

L'encapsidation s'effectue dans le cytoplasme et seul l'ARN pré-génomique, associé à la polymérase P, est encapsidé car il est le seul à posséder le signal d'encapsidation. L'ARN pré-génomique est copié en un ADN (-) de 3182 nucléotides, grâce à la transcriptase inverse virale, La synthèse du second brin d'ADN (+), à partir du brin néo-synthétisé s'interrompt prématurément donnant des brins courts, de tailles variables.

La nucléocapsidite acquiert ensuite son enveloppe. Cette étape se passe dans un compartiment pré-golgien (post-réticulum endoplasmique) correspondant au site de maturation des protéines

d'enveloppe. Le virion ainsi formé par bourgeonnement de la membrane du Réticulum Endoplasmique (RE) est libéré dans la voie exocytique.

Certaines nucléocapsides ne sont pas enveloppées et retournent dans le noyau, avec libération du génome viral et redémarrage d'un nouveau cycle de multiplication transcrit. Cette étape permet le maintien d'un "pool" d'ADNccc dans le noyau de l'hépatocyte, ce qui rend difficile l'élimination totale du virus par les traitements antiviraux

Le cycle de réplication des hépadnavirus fait intervenir une transcriptase inverse, qui ne possède pas d'activité 3' 5' exonucléasique et ne corrige donc pas ses erreurs de transcription. (34)

2. L'infection par le virus de l'hépatite B chez les hémodialysées

2.1. Caractéristiques Epidémiologique

La fréquence de l'infection par le VHB chez les patients dialysés s'explique par le mde de contamination parentérale du VHB. La contamination pouvait être secondaire aux transfusions sanguines utilisées dans le traitement de l'anémie chronique de l'insuffisance rénale ou par les protocoles transfusionnels de préparation à la transplantation rénale, à une contamination nosocomiale par la transplantation d'un greffon rénal provenant d'un donneur Ag HBs positif ou porteur d'un anticorps anti HBc isolé pouvant refléter l'existence d'une hépatite B chronique occulte avec un risque d'infection de novo du receveur. Actuellement, 14,6% des patients hémodialysés en France, 20,6% des patients hémodialysés au Japon et 9,1% des patients hémodialysés aux Etats-Unis sont porteurs chroniques de l'antigène HBs. (35)

2.2. Caractéristique virologique et biochimique

En raison de la diminution de la synthèse d'anticorps chez les patients transplantés traités par immunosuppresseurs et dans une moindre mesure chez les patients dialysés, la sensibilité des tests sérologiques était plus faible que dans la population générale, au moins avec la sensibilité des tests des années 1980. Les marqueurs sérologiques d'infection en cas d'atteinte aiguë voire chronique pouvaient apparaître tardivement ou être absents. On observait ainsi jusqu'à 30% de faux négatifs de l'Ag HBs malgré une virémie positive en hybridation. Les anomalies biologiques sont moins fréquentes que dans la population générale: les transaminases sont normales dans plus de la moitié des cas malgré une réplication virale prouvée. Le test diagnostique le plus efficace d'infection chronique par le VHB reste donc la recherche de la virémie chez les hémodialysés et les transplantés rénaux. (36)

2.3. Circonstance de transmission

-Contamination interne du générateur de dialyse par le sang d'un patient dialysé précédemment (capteurs de pression, circuit du dialysat)

- Injection de médicaments ou solutés contaminés par le sang d'un patient porteur du virus, notamment lors d'utilisation de flacons multi-doses
- Contamination de l'accès vasculaire ou du site d'accès du circuit extracorporel ; ce virus relativement stable dans l'environnement peut contaminer les voies d'accès.
- Ce virus pénètre dans la circulation lors de la ponction veineuse ou d'injection de médicament.(37)

2.4. Histoire naturelle de l'hépatite B

Chez les patients dialysés, l'histoire naturelle de l'hépatite chronique B a été peu analysée. Elle ne semble pas augmenter la morbidité et la mortalité des patients. Chez les patients transplantés rénaux, les premières études ont clairement montré une surmortalité des transplantés infectés par le VHB par comparaison à ceux non infectés par le VHB ; bien que ces résultats restent discutés, il existe dans toutes les études une surmortalité liée au foie secondaire à l'évolution plus fréquente et plus rapide vers la cirrhose et le carcinome hépato-cellulaire, probablement en relation avec une virémie plus importante. Des formes d'hépatites rapidement évolutives vers l'insuffisance hépatocellulaire et le décès en quelques semaines ont également été décrites chez des patients traités par immunosuppresseurs: Ces tableaux de fibrose hépatique cholestasiente sont dus à un dysfonctionnement des hépatocytes du fait de l'accumulation des antigènes viraux dans les citernes du réticulum endoplasmique que reflètent des virémies très élevées. D'autre part, la survie du greffon est dans la plupart des études plus faible chez les patients infectés par le VHB ; la responsabilité du VHB dans les glomérulonéphrites extra-membraneuses ne semble pas en rendre compte. (38)

3. Diagnostic virologique de l'hépatite B

Les outils virologiques utiles pour le diagnostic, le suivi et la prise en charge thérapeutique des hépatites virales liées au virus de l'hépatite B (VHB) sont à la fois sérologiques et moléculaires.

A côté des tests classiques de détection des antigènes viraux et des anticorps dirigés contre eux, de nouvelles techniques de biologie moléculaire permettent aujourd'hui une quantification plus sensible et plus précise de l'ADN virale. De nouveaux marqueurs, comme le génotype du VHB ou le profil de substitutions amino-acidiques associées à la résistance du VHB aux analogues nucléotidiques, pourraient également trouver une indication en pratique clinique. (39)

3.1. Marqueur sérologique :

3.1.1. L'antigène de surface (AgHBs) et l'anticorps de surface (anti-HBs) de l'hépatite B

La présence de l'AgHBs signe l'infection par le VHB. L'AgHBs se détecte dans le sérum entre une et douze semaines après l'exposition au VHB, avant l'apparition des symptômes ou l'augmentation de l'alanine aminotransférase (ALT)

La disparition de l'AgHBs est suivie par l'apparition de l'anticorps anti-HBs. Toutefois, chez certains patients, l'anti-HBs et l'AgHBs seront indétectables durant la période de latence sérologique. L'anti-HBs est considéré comme l'anticorps neutralisant et est reconnu comme un marqueur de protection contre la maladie et de guérison¹⁵. Chez la plupart des patients, l'anti-HBs persiste toute la vie, ce qui confirme une immunité à long terme.

En cas de guérison de l'hépatite aiguë, l'AgHBs devient habituellement indétectable après quatre à six mois. La persistance de l'AgHBs plus de six mois signifie une infection chronique.

La coexistence de l'AgHBs et de l'anti-HBs a été rapportée jusque chez 24 % des porteurs chroniques du virus de l'hépatite B. Dans la majorité des cas, les anticorps sont incapables de neutraliser les virions circulants. Ces individus doivent être considérés comme des porteurs chroniques du VHB.

L'anti-HBs sera le seul marqueur sérologique chez les individus qui ont une réponse Immunitaire après la vaccination contre l'hépatite B. (40)

3.1.2. L'antigène (AgHBc) et l'anticorps (anti-HBc) du noyau (core) de l'hépatite B

L'AgHBc est un antigène intracellulaire exprimé dans les hépatocytes infectés. Il n'est pas détecté dans le sérum, contrairement à l'anticorps anti-HBc qui peut être détecté durant l'évolution de l'infection à VHB.

Durant l'infection aiguë, l'anti-HBc de la classe des IgM prédomine. L'anti-HBc IgM est souvent le seul marqueur de l'infection à VHB durant la période de latence sérologique, entre la disparition de l'AgHBs et l'apparition de l'anti-HBs. L'anti-HBc IgM est généralement considéré comme un marqueur de l'infection aiguë à VHB. Il disparaît habituellement après quelques mois, au moment où apparaît l'anti-HBc IgG, mais peut demeurer détectable jusqu'à deux ans ou plus après l'infection aiguë. De plus, le titre de l'anti-HBc IgM peut augmenter à un niveau détectable durant les exacerbations de l'hépatite B chronique, ce qui laisse croire erronément à une hépatite B aiguë

L'anti-HBc IgG persiste avec l'anti-HBs chez les patients qui guérissent de l'hépatite B aiguë. Il persiste aussi en association avec l'AgHBs chez ceux qui évoluent vers une hépatite B chronique.

La présence simultanée de l’anti-HBc et de l’anti-HBs est synonyme d’une immunité contre le VHB acquise par une infection plutôt que par la vaccination.

Il est à noter que les laboratoires dosent les anti-HBc totaux et les anti-HBc IgM, mais non les anti-HBc IgG. (41)

3.1.3. L’antigène e (AgHBe) et l’anticorps e (anti-HBe) de l’hépatite B

L’AgHBe est produit à partir de la protéine précore et de la protéine du core. L’AgHBe est généralement considéré comme le marqueur de la réplication et de la contagiosité du VHB. La présence de l’AgHBe est associée à des taux élevés d’ADN-VHB plasmatique et à un plus haut taux de transmission périnatale et de transmission professionnelle de l’infection à VHB

Chez les patients atteints d’une infection aiguë, la séroconversion de l’AgHBe à l’anti-HBe se produit tôt, avant la séroconversion de l’AgHBs à l’anti-HBs, Chez les patients atteints d’une infection chronique à VHB, la séroconversion de l’AgHBe à l’anti-HBe se produit entre quelques années et quelques décennies après le début de l’infection. La séroconversion de l’AgHBe à l’anti-HBe est associée à une diminution de la charge virale d’ADN-VHB dans le sang et à la rémission de la maladie hépatique chez la majorité des patients

Des patients continuent d’avoir une maladie hépatique active après la séroconversion de l’AgHBe à l’anti-HBe. Ils peuvent présenter des taux peu élevés du virus sauvage et développer des variants du VHB. Ces variants résultent de mutations introduisant un codon d’arrêt au niveau du gène du précore ou une double substitution des nucléotides dans la région du gène promoteur du core qui empêchent ou réduisent la production d’AgHBe. (42)

- Différentes situations sérologiques rencontrées au cours de l’infection à VHB (tableau 3). (96)

	Ag HBs	IgM anti-HBc	IgG anti-HBc	ADN VHB	Ag HBe	IgG anti-HBe	IgG anti-HBs
Hépatite aiguë	+	+	+	+/-	+/-	-	-
Début d’hépatite aiguë	-	+	+	-	-	+	-
Hépatite chronique active	+	-	+	+	+	-	-
Porteur sain	+	-	+	-	-	+	-
Vaccination	-	-	-	-	-	-	+

3.2. Marqueur de réplication virale

Plusieurs types de tests sont actuellement disponibles, reposant soit sur des techniques d'ADN branché, soit sur des techniques de PCR qualitatives et quantitatives, soit sur des techniques de PCR en temps réel.

Il est important de noter que tous les tests n'ont pas les mêmes performances en termes de sensibilité, mais aussi en termes d'éventail de détection. Ceci est important car certains tests peuvent ne pas quantifier des charges virales très élevées, nécessitant donc une dilution des échantillons sériques pour une détermination précise de celle-ci, si elle est supérieure au seuil supérieur de détection. Les résultats sont rendus en copies d'ADN/ml de sérum ou bien plus récemment en UI/ml. Plusieurs études ont montré qu'il existait une corrélation statistique entre la charge virale et le degré des lésions hépatiques. (43)

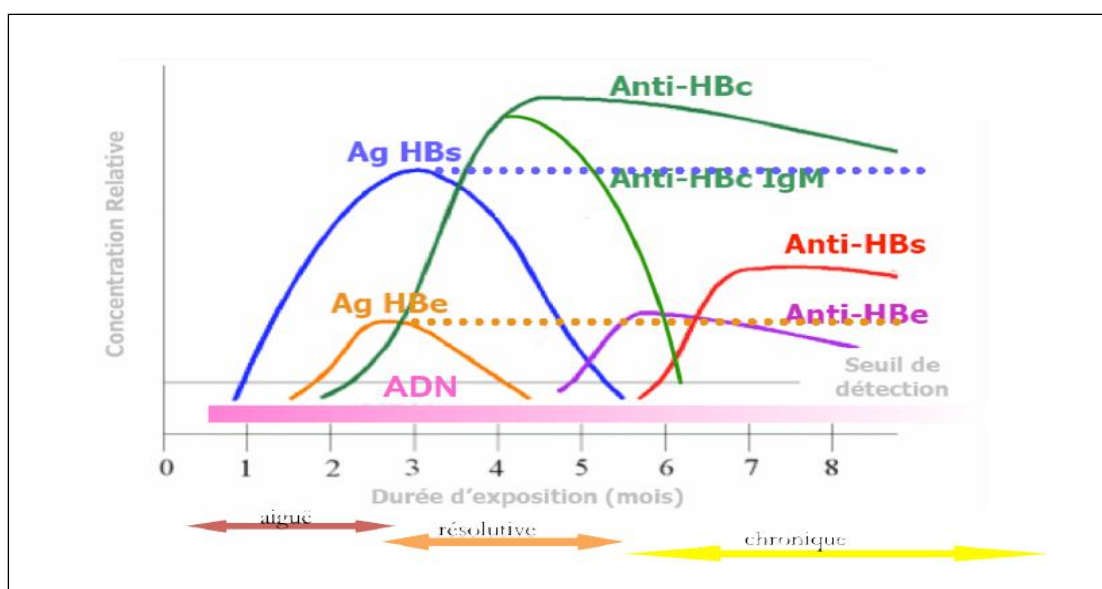


Figure 14 : Evolution des marqueurs sériques de l'hépatite B au cours de l'hépatite aiguë ou chronique. (43)

3.3. Les nouveaux marqueurs virologiques

Un certain nombre de nouveaux marqueurs virologiques ont été utilisés dans des essais thérapeutiques chez des malades infectés par le VHB. Principalement moléculaires, ils ne sont pas toujours disponibles dans les laboratoires de virologie, leur intérêt et leur utilisation optimale en pratique clinique restent à établir.

3.3.1. Les méthodes de génotypage

Les progrès des techniques d'analyse des génomes viraux favorisent désormais l'exploitation de la variabilité génétique du VHB, et la différenciation de ses différents génotypes. Ces techniques sont comparées à la technique de séquençage et à l'analyse phylogénétique qui constitue la méthode de référence. Ce sont: l'analyse par polymorphisme de restriction, l'utilisation d'amorces spécifiques

de type lors d'une réaction par amplification génomique de PCR ou les techniques d'hybridations différentielles le «reverse dot blot», technique relativement simple en cours de commercialisation par la firme Innogenetics (Gand, Belgique). Des techniques sérologiques permettent également de sérotyper le VHB avec une bonne concordance avec le géotypage. (44)

3.3.1.1. Séquençage et analyse phylogénétique

Le séquençage, méthode de référence, consiste à amplifier par PCR puis séquencer la région d'intérêt du virus du patient, en l'occurrence la RT. L'interprétation des résultats demande une contribution humaine importante, y compris un contrôle visuel de la qualité de la séquence obtenue de chacun des brins d'ADN, une décision concernant les résultats ambigus ou ceux qui diffèrent de la séquence de référence, l'assemblage des séquences partielles de chaque amorce pour former une séquence complète, la traduction en acides aminés, l'établissement d'un rapport et l'enregistrement dans une base de données. Cette méthode présente l'avantage de détecter toutes les mutations d'intérêt et comme inconvénient de ne détecter que les espèces majoritaires. La sensibilité de caractérisation des mutants est dépendante de celle de la PCR qui a permis d'amplifier initialement les fragments.

Actuellement, le séquençage du génome entier du VHB et l'analyse phylogénétique constituent la méthode de référence pour le géotypage des souches de VHB. Toutefois, la comparaison des séquences obtenues sur le génome entier et dans la région du gène S a montré que les séquences dans la région S permettaient également d'identifier précisément les géotypes de A à F. Une région intéressante pour le géotypage est la région du gène P chevauchant le gène S, dont l'amplification puis le séquençage permet l'identification du géotype dans le cadre de lecture du gène S et la détection simultanée des mutations de résistance au traitement dans le cadre de lecture du gène P. Une trousse standardisée ciblant cette région du génome est commercialisée par Bayer Diagnostics (Trugene HBV Kit). Si la région S est la plus fiable pour le géotypage, elle ne permet cependant pas de détecter les éventuelles recombinaisons entre les souches de VHB. Aucune souche de référence n'est à ce jour disponible pour la standardisation ou les contrôles de qualité des tests de géotypage. (45)

3.3.1.2. Analyse par polymorphisme de restriction

L'analyse par polymorphisme de restriction (restriction fragment length polymorphism : RFLP) repose sur la différence de taille d'amplicons du gène S après digestion enzymatique. Après une étape d'amplification, les séquences sont digérées par plusieurs endonucléases (HphI, NciI, AlwI, EarI et NlaIV) et les fragments obtenus sont séparés par électrophorèse. La taille des différents fragments est caractéristique de chaque géotype. Toute mutation portant sur la région analysée peut entraîner la suppression ou, au contraire, la création d'un site de restriction et fausser les résultats du géotypage.(46)

3.3.1.3. Utilisation d'amorces spécifiques de type

Cette méthode repose sur l'existence d'une divergence intergroupe de la séquence nucléotidique au niveau d'une région conservée des gènes préS1/S. L'ADN du VHB est amplifié par PCR nichée : alors que les amorces utilisées lors de la première PCR permettent l'amplification de tous les génotypes de A à F, les amorces de la seconde PCR sont spécifiques de chacun. L'identification des génotypes est fondée sur la différence de taille des impliquons. (46)

3.3.1.4. Hybridation sur support solide

Des techniques d'hybridation à l'aide de sondes spécifiques sur bandelettes de nitrocellulose (line probe assay : LiPA) ou, récemment, en microplaque (genotype specific probe assay : GSPA) sont des méthodes rapides, standardisées: le test INNO-LIPA HBV Genotyping (Innogenetics) différencie les génotypes A à F, et la trousse Smitest HBV genotype detection (Genome Science Laboratories) identifie les génotypes A à G. Dans un premier temps, l'ADN du VHB est amplifié par PCR dans la région préS1. Ensuite, les produits de PCR sont mis en contact avec des sondes marquées, spécifiques de chaque génotype, fixées sur des bandelettes de nitrocellulose (LiPA) ou au fond des puits d'une microplaque (GSPA). Le résultat de l'hybridation est révélé par réaction colorimétrique

3.3.1.5. Tests sérologiques

Des techniques sérologiques permettent également de déterminer les sérotypes du VHB avec une bonne concordance avec le génotypage. Un panel d'anticorps monoclonaux dirigés contre sept épitopes de la région préS2 permet de différencier les génotypes selon leurs réactivités antigéniques. Les protéines préS2 fixées au fond des puits d'une microplaque sont testées avec les anticorps monoclonaux marqués, reconnaissant les épitopes *b* (commun à tous les génotypes), *k*, *m*, *s*, *u* et *g*. Chaque génotype est caractérisé par une combinaison différente des épitopes : *bsu* pour le génotype A, *bm* pour le B, *bk* pour le F. Les génotypes D et E possèdent la même spécificité antigénique *bks*, mais seul le génotype D réagit avec l'anticorps dirigé contre l'épitope *g*. Le génotype G est caractérisé par un sérotype préS2 identique à celui du génotype D et un AgHBs de sous-type *adw*. La difficulté de ces différentes méthodes de génotypage réside dans l'interprétation des mutations associées à la résistance vis-à-vis d'un médicament. (46)

3.4. Coïnfection par l'hépatite D

Le virus de l'hépatite D (VHD) est un virus déficient qui ne peut causer d'infection qu'en présence de l'AgHBs car le VHB est nécessaire à l'assemblage de son virion. Il peut y avoir infection concomitante par les deux virus, ce qui augmente le risque d'hépatite fulminante, ou surinfection à hépatite D chez un porteur chronique de VHB, ce qui peut entraîner une hépatite aiguë. Environ quinze millions des porteurs d'hépatite B pourraient être infectés par le VHD; cette co-infection est associée à un plus mauvais pronostic, surtout en présence du VIH.

Le diagnostic de l'hépatite à VHD est établi par la présence d'anticorps circulants contre le VHD (anti-VHD). La distinction entre les anti-VHD IgM et IgG n'est pas faite en laboratoire car sur le plan clinique, il n'est pas nécessaire de savoir si l'infection est récente ou non. Pour cette raison, le diagnostic est établi par le dosage des anti-VHD totaux. Le dosage de l'ARN-VHD, n'effectué par PCR, n'est pas disponible en dehors des centres spécialisés et des centres de recherche.

Le dosage de l'ARN-VHD n'est donc pas recommandé pour le diagnostic mais peut être utile lorsqu'un traitement est prévu. Les traitements à base d'analogues des nucléotides ne semblent pas donner de résultats à court terme. Les traitements à base d'interféron alpha semblent plus prometteurs. (47)

4. Traitement

4.1. Les objectifs du traitement

L'objectif le plus ambitieux du traitement anti-VHB est d'obtenir une clairance de l'AgHBs et une séroconversion anti-HBs. Cependant, la séroconversion n'est obtenue que dans une minorité de cas. Par conséquent, un objectif plus réaliste est de supprimer la réplication VHB efficacement et durablement, afin de réduire l'inflammation hépatique et d'arrêter ou de retarder la progression de la fibrose et ce faisant d'empêcher le développement de cirrhose, décompensation, CHC et le décès d'origine hépatique. Les patients ne devenant symptomatiques qu'au stade cirrhotique, la difficulté repose en partie sur le dépistage des patients devant bénéficier d'un traitement. Les indications thérapeutiques sont généralement indépendantes du statut HBe et reposent sur le taux de transaminases (> aux normales biologiques (N) durant plus de six mois), la CV-VHB (> 2000 UI/ml) ainsi que le statut histologique et le stade de la fibrose. (48)

4.2. Les molécules actives contre le VHB

La plupart des adultes immunocompétents et infectés par le VHB n'ont en général pas besoin de traitement car, éliminant spontanément le virus après six mois. Toutefois, des traitements sont disponibles pour les individus chroniquement infectés et ceux à risque de développer une hépatite fulminante. Ces traitements n'éliminent pas le virus mais, ont pour but d'inhiber sa multiplication en ralentissant ainsi la progression de la maladie. Deux types de molécules sont proposés : des analogues d'antiviraux nucléotidiques et nucléotidiques qui peuvent directement inhiber la réplication de l'ADN viral et l'interféron α capable de moduler aussi bien la réponse immunitaire que la multiplication virale.

Toutefois, Le choix d'initier un traitement contre le VHB dépend de plusieurs facteurs :

- Une charge virale élevée
- Une augmentation des transaminases sériques
- Un état de fibrose ou de cirrhose avancé
- Une réactivation de la réplication virale due à une immunosuppression

La réponse au traitement dépend également du génotype en cause dans l'infection. Ainsi, une meilleure réponse à l'interféron est obtenue pour les génotypes A et B que pour les génotypes C et D. Aussi, les individus infectés par le génotype B répondent mieux au traitement par la lamivudine que ceux infectés par le type C

Exemples d'antiviraux nucléotidiques et nucléotidiques

-La lamivudine : c'est un analogue de la didésoxycytidine. Elle inhibe la polymérase du VHB par incorporation compétitive avec la didésoxycytidine. Suite à une réponse favorable au traitement par la lamivudine, le taux sérique d'ADN du VHB décroît considérablement et devient indétectable dans certains cas. Cependant, la virémie recommence à croître dès l'arrêt du traitement, car la lamivudine n'a pas d'action sur la formation initiale d'ADN du VHB

-L'adéfovir : cette molécule appartient à la famille des phosphonates de nucléotides acycliques. Elle inhibe les virus à ADN et certains rétrovirus comme le VIH. Son métabolite, est un inhibiteur compétitif du désoxy-ATP, substrat naturel de la polymérase du VHB.

-L'entécavir : c'est un analogue de la cyclo-pentyl-guanosine. Elle inhibe spécifiquement la polymérase du VHB en bloquant toutes les étapes impliquées dans la réplication de l'ADN.

Elle à plus tolérable et moins toxique pour la fonction rénale.

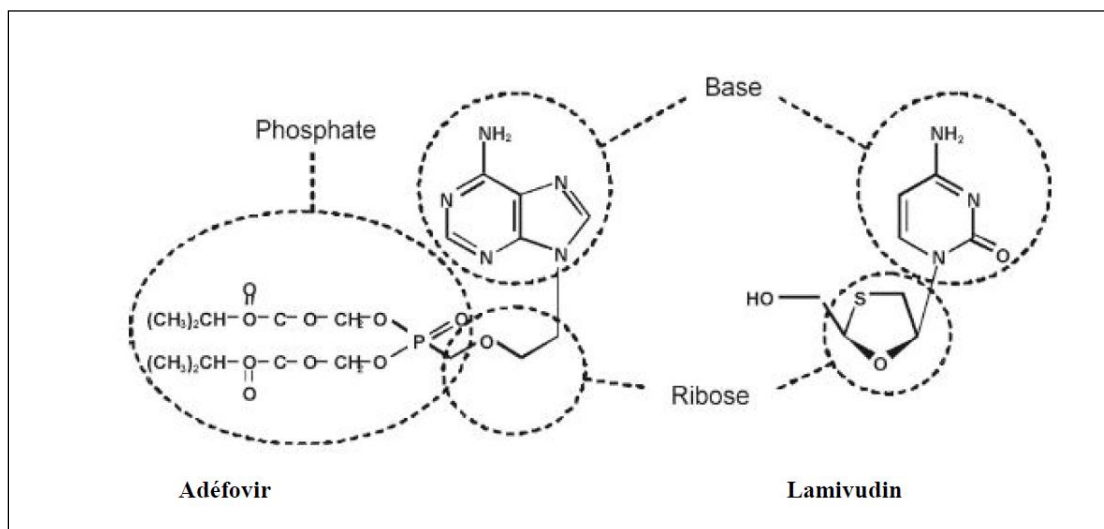


Figure 15 : Structure moléculaire de l'adéfovir et de la lamivudine. (54)

-Les interférons : L'interféron alpha (IFN α) est une cytokine naturelle du système immunitaire. Cette cytokine possède une activité immunomodulatoire, antiproliférative et antivirale. L'effet antiviral de l'interféron α sur le VHB est dû à l'inhibition par l'interféron, des ARN viraux et par l'activation d'enzymes antivirales, empêchant ainsi la réplication du virus. L'association d'une molécule de polyéthylène glycol à l'interféron α (interféron pégylé) permet d'améliorer son activité, notamment dans la fréquence de la prise hebdomadaire du traitement (trois fois pour l'interféron α et une fois pour la forme pégylée). Dans le cas de l'hépatite B chronique, le but du traitement avec l'interféron α ou avec sa forme pégylée est, d'obtenir une séroconversion rapide de l'AgHBe et une

charge virale indétectable. Mais ce traitement n'est pas dépourvu d'effets secondaires, notamment chez la femme enceinte. (54)

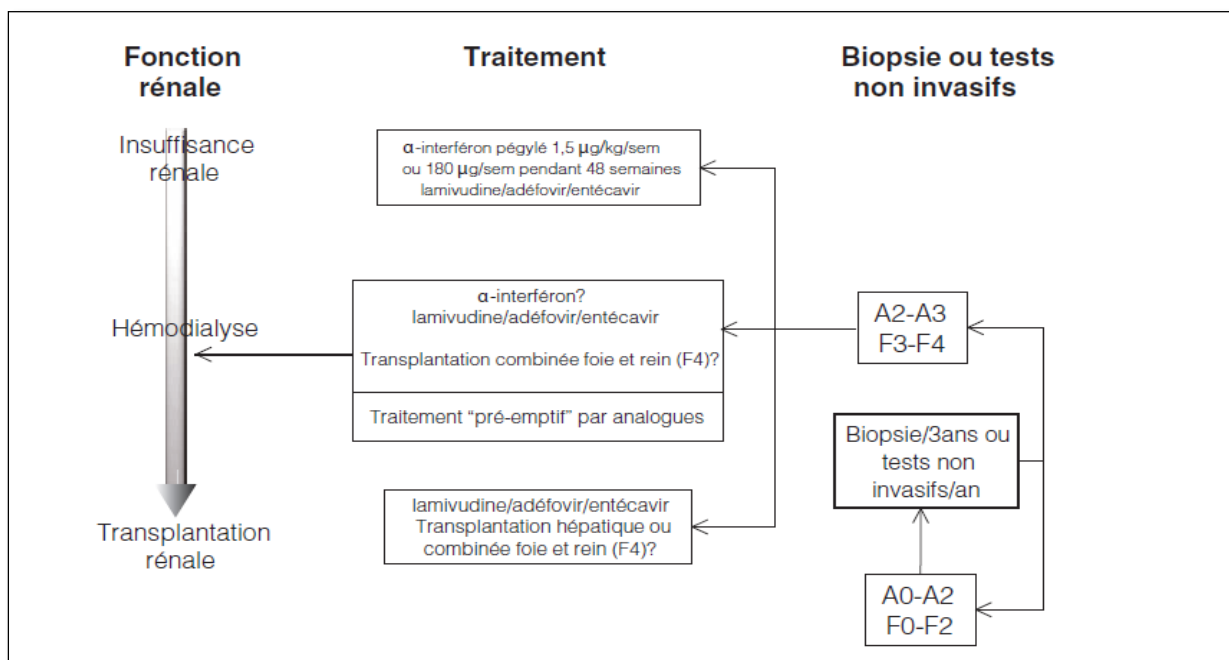


Figure 16: Algorithme de traitement de l'infection virale B selon le traitement de l'insuffisance rénale (54)

-Vaccination

Le vaccin a été produit à partir d'antigène HBs purifié (vaccin dérivé du plasma) puis par biologie moléculaire permettant la synthèse d'anticorps dirigés contre les protéines du gène de surface du virus de l'hépatite B. (93)

ces deux types de vaccin (plasmatisques et recombinants) ont une immunogénicité comparable induisant l'apparition d'anticorps anti-HBs à un titre protecteur (>10 mU/mL) dans 90 à 95 % des cas Le vaccin du VHB porte le déterminant HBs ou HBs (+) pré S2 (Génhévac B). La forme adulte est de 20 µg, enfant 10 µg, nouveau-né 5 µg. Le protocole standard recommandé chez l'adulte est de trois injections à des intervalles d'un mois, avec une dose de rappel un an plus tard. Le calendrier pour les nourrissons et les adolescents comprend trois injections administrées à 0, 1 et 6-12 mois L'efficacité vaccinale se définit par l'aptitude du vaccin à réduire significativement l'incidence de l'hépatite B chez les sujets vaccinés comparativement à des sujets n'ayant pas reçu le vaccin

Le vaccin contre l'hépatite B est le premier et actuellement le seul vaccin contre un cancer humain qui est celui du foie

Les personnes concernées par la vaccination sont le personnel de santé, les sujets devant être transfusés (en particulier les polytransfusés), les toxicomanes, toute personne vivant sous le même toit avec un porteur chronique du VHB et Les enfants nés de mères positives pour l'Ag HBs.

La protection conférée par la vaccination contre l'hépatite B peut être objectivée directement par la détermination des titres d'anticorps anti-HBs. La présence d'un titre d'anticorps supérieur à 10 UI/l a été démontrée comme protectrice, établissant ainsi un seuil minimal de protection des anticorps. La durée de persistance de ces anticorps est directement liée au taux atteint un à trois mois après la troisième dose vaccinale, dose indispensable à l'installation de la mémoire immunitaire.

Les lymphocytes T mémoire et les lymphocytes B mémoires ne sont réactivés que lorsqu'ils sont à nouveau mis au contact de l'antigène dont ils sont spécifiques. En réponse à une exposition infectieuse (ou vaccinale en cas de rappel), les cellules mémoires prolifèrent très rapidement et se différencient en 3 à 5 jours en plasmocytes producteurs de taux élevés d'anticorps ou en lymphocytes T CD4/CD8 capables d'éliminer particules virales et/ou cellules infectées. (93)

Chapitre : 4
Les hépatites virales
C chez
l'hémodialysé

1. Généralité sur le virus

1.1. Présentation de l'hépatite C

L'hépatite C est une maladie infectieuse transmissible par le sang et due au virus de l'hépatite C (VHC ou HCV en anglais), qui s'attaque au foie.

L'infection se caractérise par une inflammation du foie (l'hépatite) qui est souvent asymptomatique, mais qui peut évoluer vers une hépatite chronique et plus tard une cirrhose (fibrose cicatricielle du foie) et un cancer du foie.

L'existence du virus de l'hépatite C (VHC) avait été suspectée devant la persistance des hépatites post-transfusionnelles malgré la mise en place de tests sérologiques pour dépister les infections par le virus de l'hépatite B (VHB).

Le VHC a été le premier virus identifié par des techniques de biologie moléculaire. Clonage moléculaire d'une banque d'expression et identification par immuno-marquage à l'aide d'anticorps de patients présentant une hépatite d'étiologie inconnue. (94)

1.2. Historique

Au milieu des années 1970, Harvey J. Alter, responsable de la section des maladies infectieuses au département de médecine transfusionnelle des National Institutes of Health (NIH), a démontré avec son équipe que la plupart des cas d'hépatite post-transfusionnelles n'étaient pas dus au virus de l'hépatite A ni à celui de l'hépatite B. Malgré cette découverte, les efforts de recherche coordonnés au niveau international pour identifier le virus responsable de cette maladie, initialement baptisée « hépatite non A non B » (NANBH en anglais), sont restés sans résultat pendant une décennie. En 1987, Michael Houghton, Qui-Lim Choo, et George Kuo de la Chiron Corporation, en collaboration avec le Dr DW Bradley du CDC, ont utilisé une nouvelle approche de clonage moléculaire pour identifier l'organisme inconnu.(49) En 1988, l'existence du virus a été confirmée par Alter qui a vérifié sa présence chez un groupe de patients atteints d'hépatite non A non B. En avril 1989, la découverte du virus, connu maintenant sous le nouveau nom de virus de l'hépatite C (VHC), a fait l'objet d'une publication dans deux articles de la revue Science. (50)

Chiron a déposé plusieurs brevets sur le virus et ses méthodes de diagnostic sérologique.(51) Une demande de brevet concurrente déposée par le CDC a été abandonnée en 1990 après que Chiron a payé 1,9 million de dollars au CDC et 337 500 USD à Bradley. En 1994, Bradley a poursuivi Chiron, pour faire invalider le brevet, se considérant lui-même comme co-inventeur, et

demandant à recevoir des dommages et intérêts et des royalties. Il a renoncé en 1998 après avoir perdu devant une cour d'appel.(52)

En 2000, les docteurs Alter et Houghton ont reçu le prix Lasker pour leurs travaux novateurs qui ont abouti à la découverte du virus de l'hépatite C et au développement de méthodes de dépistage permettant de réduire les risques d'hépatite post-transfusionnelle aux États-Unis de 30 % dès 1970 et à le réduire à un niveau proche de zéro en 2000.(53)

En 2004, Chiron a obtenu 100 brevets dans 20 pays atteints par l'hépatite C et a poursuivi avec succès devant les tribunaux de nombreuses entreprises qui avaient utilisé illégalement son procédé. Les scientifiques et les concurrents se sont plaints que la société entravait la lutte contre l'hépatite C en exigeant des redevances trop élevées pour utiliser sa technique. (52)

1.3. Classification

La famille des Flaviviridae est constituée de virus enveloppés, sphériques, d'environ 40-50 nm de diamètre, dont le génome est formé d'ARN linéaire simple brin de 10 à 12kb. Cette famille regroupe trois genres (Flavivirus, Pestivirus, Hépacivirus). Le virus de la fièvre jaune, premier virus connu de cette famille, lui a donné son nom (du latin flavus, jaune). Les Flaviviridae les plus importants en termes de santé publique sont le virus de la fièvre jaune, de la dengue, de l'encéphalite japonaise, le virus West Nile et le virus de l'Hépatite C. Les Flaviviridae se transmettent par des vecteurs arthropodes (essentiellement tiques et moustiques) à l'exception du virus de l'Hépatite C qui se transmet par voie sanguine.

Le VHC est un virus au tropisme restreint, infectant essentiellement les hépatocytes mais retrouvé également dans les cellules dendritiques et dans les cellules mononuclées du sang.(54)

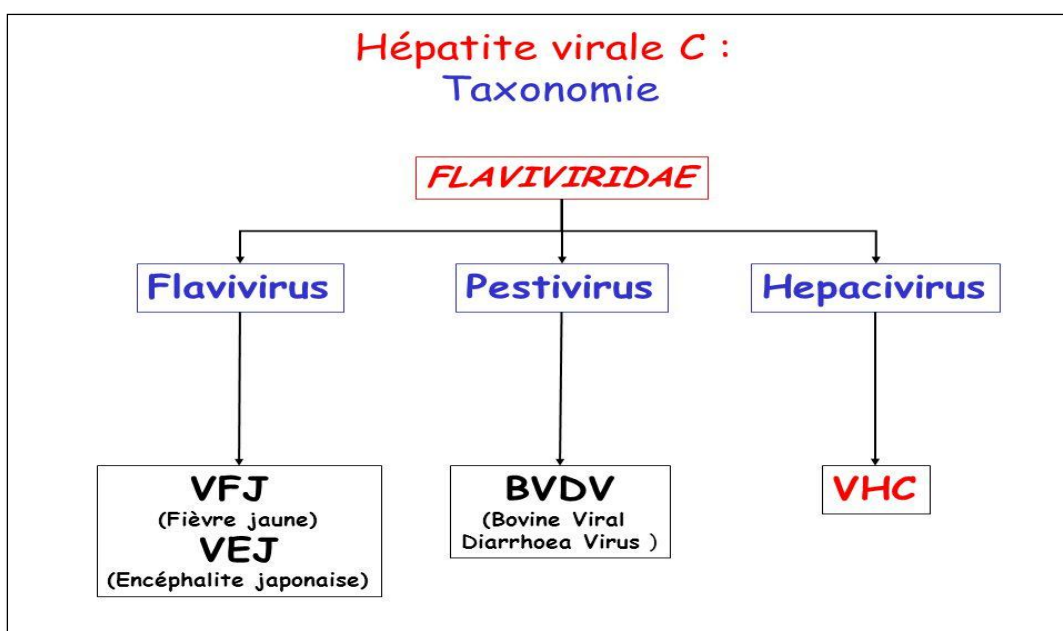


Figure 17 : Classification taxinomique du virus de l'hépatite C. (97)

1.4. Structure du VHC

Le VHC est un petit virus enveloppé de 55 à 65 nm de diamètre qui a aujourd'hui été visualisé en microscopie électronique.

L'ARN virale (de taille 40 à 50nm) est contenu dans une capsidie protéique (c) à symétrie icosaédrique.

La capsidie est entourée d'une enveloppe lipidique dans laquelle sont insérées deux protéines distinctes E1 et E2. Son poids moléculaire serait voisin de 4000000 Dalton.

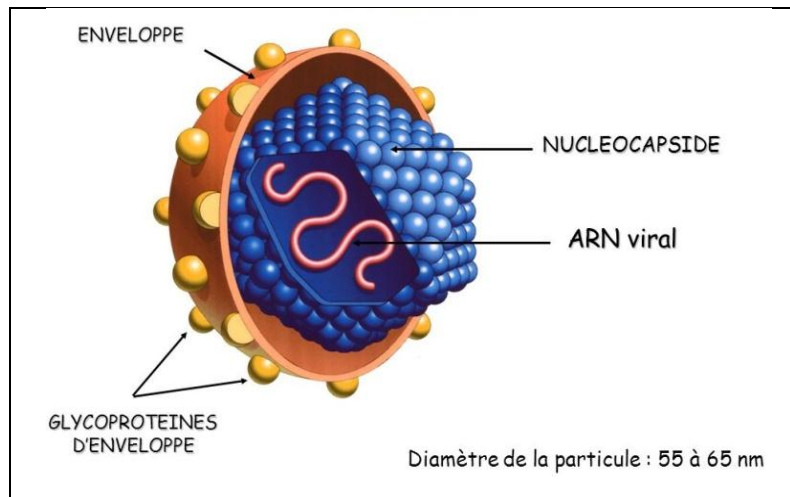


Figure 18 : Le virus de l'hépatite C. (97)

Le génome de VHC est constitué d'une ARN monocaténaire, de polarité positive, d'une taille de 9600 nucléotides environ. (98)

1.5. L'organisation génomique du VHC

-L'organisation génomique du VHC est la suivante :

- La région 5' NC du HCV est impliquée dans le processus d'initiation de la traduction. Il a été montré que la région 5' NC possède un site interne d'entrée de ribosomes, ou IRES, qui permettent la fixation des ribosomes sur l'ARN en région 5' terminale.
- Des différentes protéines obtenues après clivage de la poly-protéine virale par des protéases cellulaires régionales (C et E) et virale (NS).
- La protéine de capsidie (la protéine c ou p21) qui assure :
 - a. La fixation à l'ARN.
 - b. La régulation de promoteur cellulaire et viral.
 - c. Un effet inhibiteur de l'apoptose sous certaines conditions.
 - d. L'interaction avec des protéines cellulaires peut conférer un pouvoir transformant à certaines cellules.

- Une petite protéine appelée P7 a été identifiée. Elle est localisée entre E2 et la protéine NS2. Leur fonction est inconnue.
- Les deux tiers restants du génome du VHC codent pour les protéines non structurales NS2, NS3, NS4, NS5 dont l'ordre a été établi. (55)

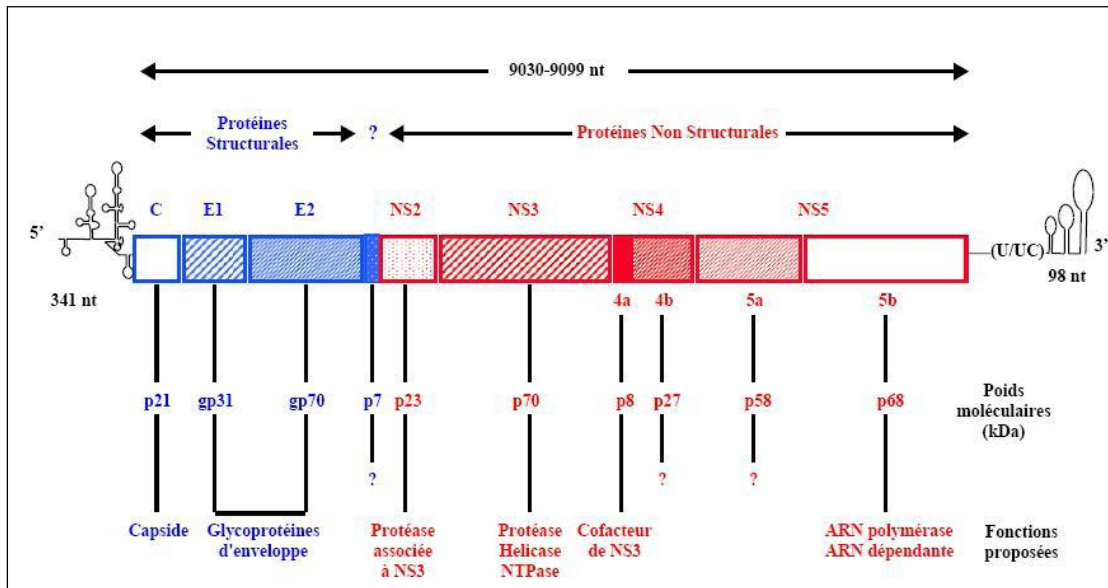


Figure 19 : Organisation génomique du VHC. (54)

1.6. Tropisme et multiplication du VHC

Son tropisme est principalement hépatique, mais touche aussi les cellules mononuclées du sang périphérique.

Du fait de l'absence de système de culture in vitro du VHC, son cycle de réplication reste mal connu :

1. La molécule de tétrapanine ou molécule CD81, été récemment identifiée : un récepteur présent à la surface de nombreuse cellules, en particulier les hépatocytes et les cellules mononuclées du sang, (on ne sait pas s'il y a d'autre molécules qui sert à la fixation du virus sur sa cellule cible et sa pénétration).
2. L'ARN viral sert de matrice pour la synthèse par l'ARN polymérase dépendante de l'ARN virale de brin d'ARN de polarité négative.
3. Ces brins négatifs servent à leur tour de matrice pour la synthèse de brin positive.
4. Ces derniers sont utilisés comme ARNm pour la synthèse des protéines virales.
5. L'ARN génomique est encapsidé et enveloppé dans les particules virales néoformées.
6. Assemblage et sécrétion des virions. (54)

1.7. Le cycle viral

Le cycle de vie du virus demeure mal connu, du fait de l'absence de système de réplication efficace. (56) Les cellules hépatocytaires sont le site principale de réplication virale du HCV.

L'identification des particules virales se fixant aux cellules hôtes et des récepteurs d'entrée a été possible dans un premier temps grâce au modèle des pseudoparticules HCV. Les virions HCV, libres ou associés à des apolipoprotéines, interagissent en cascade avec de nombreux récepteurs présents à la surface des hépatocytes. La première interaction virus-hépatocytes fait intervenir des glycosaminoglycans (GAGs) et des récepteurs des lipoprotéines (LDLR). Ensuite, le récepteur cellulaire scavenger classe B site I (SR-BI) (57) formerait avec le récepteur cellulaire CD81 (58) un complexe permettant le transfert du HCV au niveau des jonctions serrées. Ceci permet l'interaction du virus avec des protéines de jonctions serrées : claudin-1 (CLDN1) (59) et occludines (OCLN). Ces dernières facilitent l'internalisation du HCV par endocytose des récepteurs de surface liés aux particules HCV, via une voie clathrine dépendante. Dans les endosomes, le faible pH déclenche la fusion de l'enveloppe virale avec les membranes endosomales et la libération de l'ARN génomique dans le cytoplasme. La transcription des brins d'ARN de polarité positive peut alors débuter avec la synthèse d'un brin d'ARN complémentaire de polarité négative qui sert de matrice pour la production des brins d'ARN de polarité positive.

La découverte des nouveaux systèmes de cultures cellulaires du HCV a permis d'étudier les étapes tardives du cycle réplcatif telles que l'assemblage des 13 particules et la libération des virions. L'assemblage des particules virales à l'interface du RE et des organelles de stockage des matières grasses appelées « gouttelettes lipidiques » est déclenchée par l'association des protéines du core aux lipides.(60) La colocalisation du complexe de réplication avec les protéines d'enveloppe du HCV facilite la production des virus infectieux. Ils sont ensuite libérés dans la lumière du RE et relargués à l'extérieur de la cellule par la voie de sécrétion des VLDL.(61) Il a récemment été montré *in vitro* que le HCV pouvait être transmis de cellules à cellules et que cela nécessitait la présence des récepteurs cellulaires CD81 et CLDN1. (62)

Les glycoprotéines d'enveloppe E1 et E2 impliquées dans l'entrée cellulaire s'assemblent pour former un hétérodimère. La glycoprotéine E2 joue un rôle majeur dans l'interaction avec les récepteurs SR-BI et CD81. Trois régions (AA 480 à 493, AA 528 à 535 et AA 544-551) sont impliquées dans l'interaction E2/CD81 (63) et plus récemment, des résidus spécifiques et conservés au sein des différents génotypes ont été décrits (W420, Y527, W529, G530 et D535).(64) La région HVR1 de E2 participe à l'interaction E2/SR-BI (57) Cette région très variable, participe à l'échappement viral face à la réponse immunitaire de l'hôte. Le rôle de la

protéine E1 reste peu connu. Elle serait impliquée dans le processus de fusion des membranes.
(65)

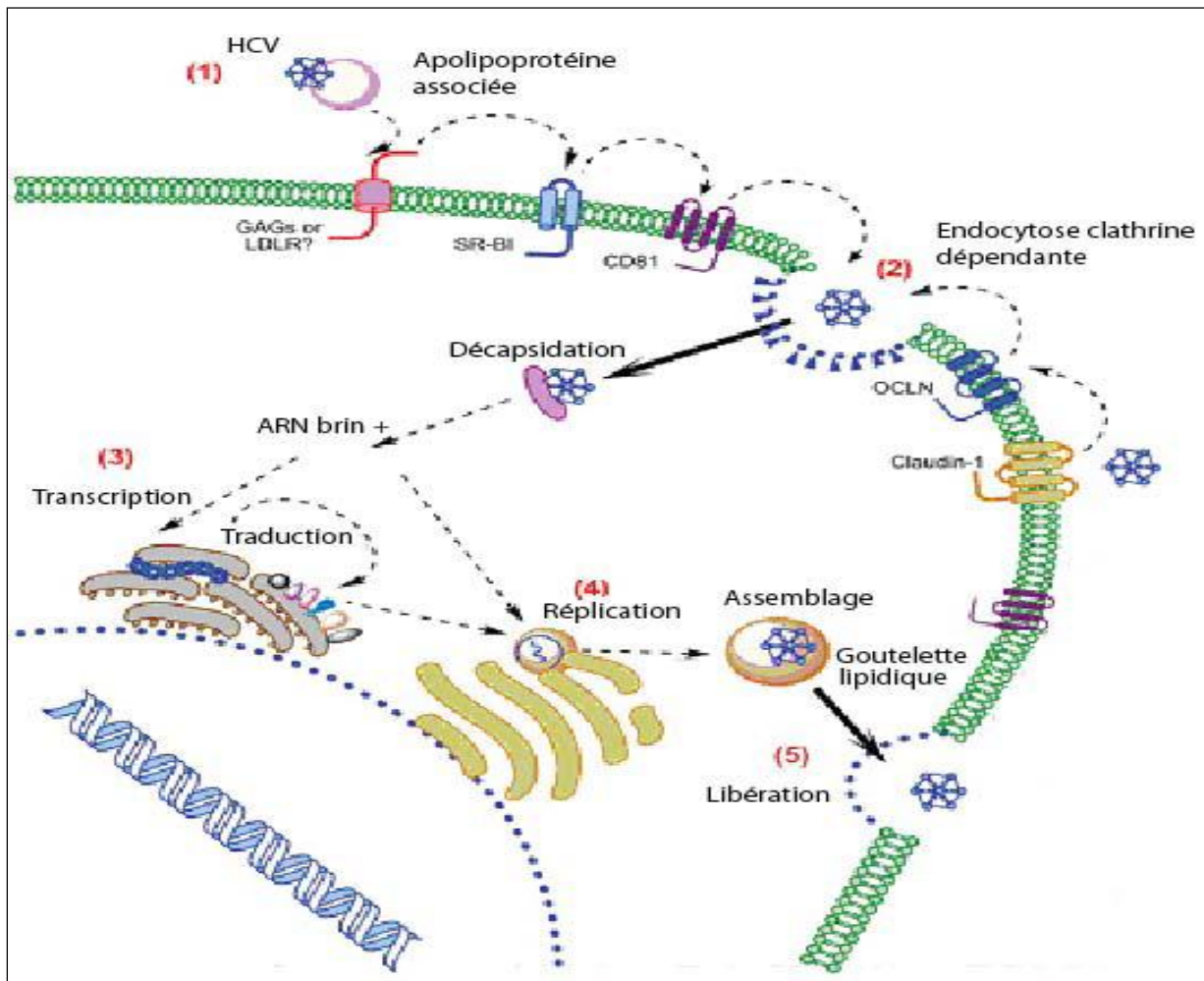


Figure 20 : Cycle réplcatif du HCV. (66)

1.8. Variabilité génétique du VHC

L'amplification de génomes provenant de sérums de sujets infectés par le VHC a mis en évidence l'hétérogénéité du virus à travers une observation de variations de séquences nucléotidiques. Si la région 5' non codante et la région codant pour la nucléocapside sont relativement conservées, les régions codant pour les protéines glycosylées d'enveloppe sont plus variables. Les régions hypervariables appartiennent à la région N-terminales des régions E1 et E2. Cette variabilité s'exprime à deux niveaux : la « quasi-espèce » et le génotype.

1.8.1. « Quasi-espèces » du VHC

Chez un individu infecté par le VHC, le virus circule sous la forme d'un mélange complexe et en équilibre instable de particules virales génétiquement distinctes mais apparentées, car tous dérivés du même inoculum. Ces particules virales sont issues des erreurs de transcription commises par l'ARN polymérase qui sont de l'ordre de 10^{-3} substitutions de nucléotides sur la totalité du génome. Ces erreurs sont prédominantes aux niveaux des régions hypervariables mais les régions 5'NC sont hautement conservées. Sous l'effet de la pression immunitaire de l'hôte, il s'opère au cours du temps une sélection de mutants du virus ou « quasi-espèces », assurant ainsi sa survie. La capacité d'adaptation des quasi-espèces virales aux modifications de l'environnement joue un rôle important dans la physiopathologie de l'infection, aussi bien dans les mécanismes de persistance virale que dans la résistance aux traitements antiviraux.

1.8.2. Génotypes du VHC

Le VHC est classé en six principaux groupes de génotypes (de 1 à 6) auxquels sont associés plusieurs sous-types (identifiés par des lettres minuscules), sur la base du séquençage et de la construction d'arbres phylogéniques. Les génotypes allant de 7 à 11 qui avaient été précédemment annoncés, sont classés comme sous-types du génotype 3 (génotype 10) et du génotype 6 (génotypes 7, 8, 9 et 11). Les isolats d'un même sous-type ont une homologie de séquences de 90%. Cette homologie est de 80 % entre différents sous-types et de 70 % entre différents génotypes. (54)

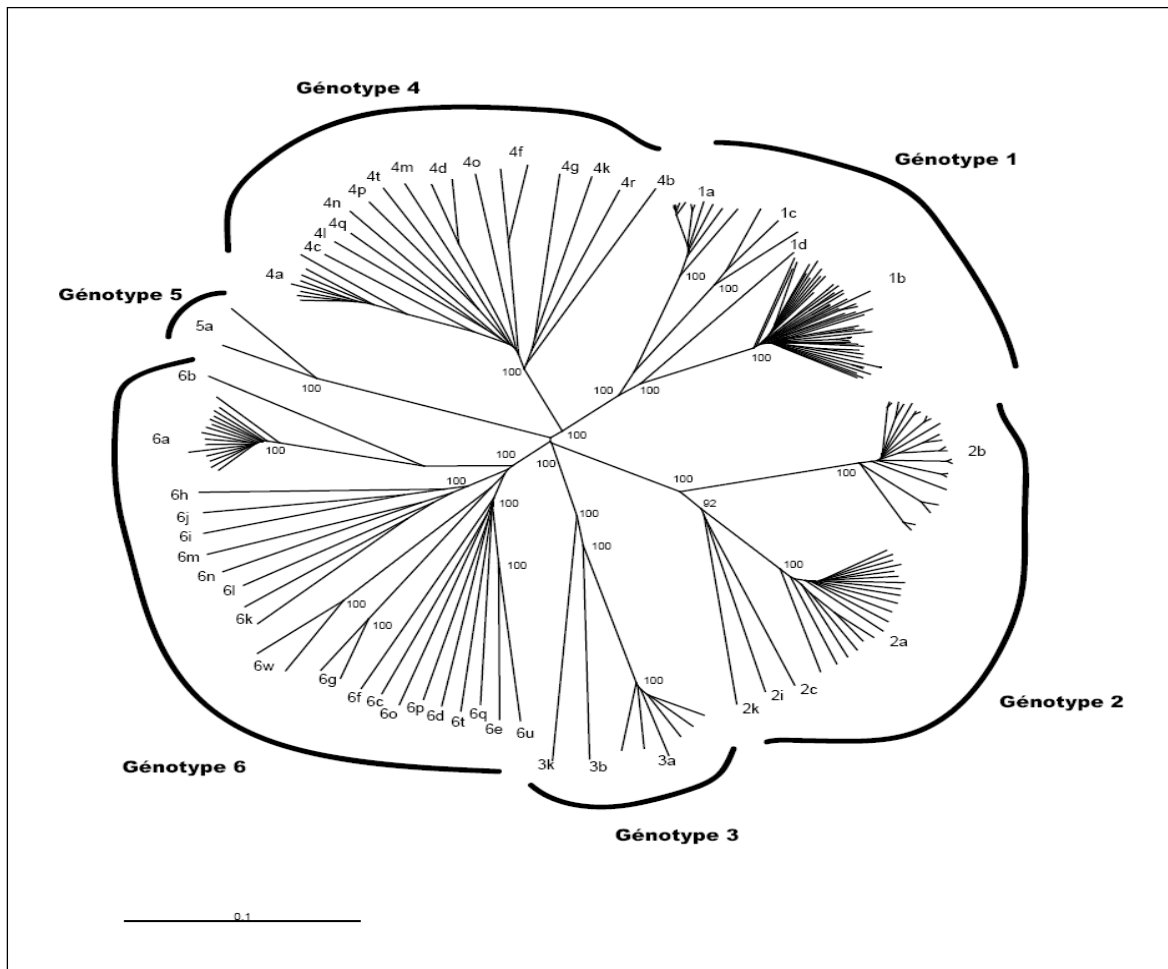


Figure 21 : Arbre phylogénétique des souches virales HCV construit à partir de génomes complets du HCV disponibles en 2010. (55)

2- L'infection par le virus de l'hépatite C chez les hémodialysées

2.1. Caractéristiques épidémiologiques

L'infection par le VHC est fréquente chez les patients insuffisants rénaux hémodialysés avec une prévalence variant entre 10 et 65 p. 100 en fonction des zones géographiques. La prévalence est significativement associée à la durée de l'hémodialyse et aux nombres d'unités de produits sanguins transfusés et a diminué de façon importante avec le développement des mesures d'hémovigilance et les précautions universelles d'hygiène mais persiste cependant. Les modes de contamination à l'intérieur des centres restent inconnus mais l'efficacité des mesures d'hygiène, la plus grande fréquence de l'infection virale C en hémodialyse par rapport à la dialyse péritonéale ou la dialyse à domicile suggèrent plus une transmission interhumaine possiblement manuportée par le personnel, qu'une transmission par l'équipement de dialyse lui-même.

La présence des anomalies biologiques est moins fréquente chez les patients insuffisants rénaux que dans la population générale : alors que l'augmentation des transaminases est observée de façon constante ou fluctuante chez 80 p. 100 des patients ayant une fonction rénale normale,

elle n'est observée que chez un tiers des patients hémodialysés et la moitié des patients transplantés rénaux . Ce critère est donc d'une valeur peu significative dans cette population particulière et il importe de réaliser d'emblée la sérologie ou mieux la virémie pour le diagnostic de l'hépatite C. Chez les insuffisants rénaux ou transplantés ayant une cirrhose virale C, le dépistage précoce du carcinome hépatocellulaire doit être réalisé comme dans la population générale par la réalisation d'une échographie et un dosage de l'alpha-foetoprotéine tous les 4 à 6 mois. (67)

2.2. Caractéristiques virologiques

La persistance de l'infection virale C n'est affirmée que par la détection de la virémie du VHC réalisée par PCR (polymerase chain reaction) et non par la recherche d'anticorps anti-VHC par les tests ELISA ou RIBA dont la positivité n'affirme que la rencontre avec le VHC. La capacité de synthèse d'anticorps est en effet diminuée et retardée chez les insuffisants rénaux, expliquant un pourcentage relativement élevé des faux négatifs des tests ELISA ou RIBA: la séroconversion est souvent retardée bien après le délai habituel des 10 semaines observé dans la population générale. Cependant, il a été suggéré que le dosage des anticorps anti- E2 soit moins affecté dans ce contexte et que ce test serait plus sensible pour la détection de l'infection par le VHC chez les patients dialysés. De la même façon, des cas de séroréversion, définis par la disparition d'anticorps anti-VHC détectables dans le sang malgré une virémie persistante, ont été décrits chez les dialysés et les transplantés rénaux. Ainsi, certaines séries ont suggéré l'existence de 1 à 15 p. 100 de faux négatifs de la sérologie chez des dialysés ayant une virémie positive, en fonction du test utilisé. Ces données avaient été obtenues principalement avant le développement de tests très sensibles et spécifiques de troisième génération qui permettent probablement de minimiser voire d'éviter ces retards diagnostiques ou les faux négatifs sérologiques.

La PCR reste donc le test diagnostique le plus efficace chez les patients insuffisants rénaux : il permet d'affirmer la présence d'une répllication virale, d'identifier le génotype et de quantifier la virémie. Il a été suggéré que l'hémodialyse diminuait d'un logarithme la virémie quantitative et qu'une virémie fluctuante était plus fréquemment observée chez les patients dialysés par rapport à la population Générale. Il se peut que des inhibiteurs de la PCR soient plus fréquemment observés chez les dialysés : une étape d'ultracentrifugation initiale permet de « normaliser » la quantification qui semble alors comparable à celle observée dans la population non dialysée.

Chez les patients insuffisants rénaux, comme chez les patients contaminés par transfusion sanguine, le génotype le plus fréquent est le génotype 1b en Europe et au Japon. Il a été suggéré que ce génotype était associé à une évolution plus sévère mais ceci reste discuté. Les génotypes 2 et 3 sont d'apparition plus récente que le génotype 1b et ont été introduits dans les unités de

dialyse dans les années 1980. Le génotype influence également la réponse thérapeutique à l'interféron, les génotypes 2 ou 3 étant plus sensibles au traitement que le génotype 1. L'impact de la diversité génomique et du génotype sur la sévérité de l'évolution de l'hépatopathie n'a pas été étudié chez les patients dialysés ou transplantés rénaux ; l'immunosuppression, comme au cours de la co-infection par le VIH augmente probablement la diversité génomique et pourrait contribuer à un pourcentage plus faible de réponse au traitement antiviral. (67)

2.3. Caractéristiques de l'infection à VHC en hémodialyse

L'infection à VHC en hémodialyse est, comme en population générale, souvent asymptomatique en phase aiguë. L'infection chronique conduit habituellement à des hépatopathies modérées.

2.3.1. Infection aiguë :

Comme dans la population générale, l'infection aiguë à VHC est très souvent asymptomatique. (69) Il n'a pas été décrit d'hépatites fulminantes. Une élévation des ALAT au-delà du taux de base des patients est régulièrement observée. (70) La mise en évidence de l'ARN VHC, possible dès la première semaine après la contamination, précède la détection des anticorps anti-VHC. Dans une étude comportant 19 cas d'infection aiguë, 75 % des patients ont présenté une séroconversion après 1 mois, 93 % après 2 mois et 100 % après 3 mois. Le passage à une infection chronique a été observé chez 79 % des patients. (69) et chez 92 % dans une autre étude.(71)

2.3.2. Infection chronique

La concentration sérique de l'ARN VHC est plus faible chez les hémodialysés que chez des patients infectés à fonction rénale normale.(72) Il a été suggéré que cela pourrait être lié à l'adsorption des particules virales sur les membranes de dialyse. Les hémodialysés chroniquement infectés par le VHC présentent une activité normale des ALAT dans plus de 70 % des cas. Il importe toutefois de noter que l'activité des ALAT est significativement plus élevée chez les hémodialysés infectés par VHC que chez les sujets anti-VHC (+)/ARN VHC (-) ou anti-VHC (-).(73) Sur le plan histologique, plusieurs études ont montré que les hémodialysés infectés par le VHC présentaient des hépatopathies modérées.(72) D'autres études ont montré néanmoins des stades avancés de fibrose ou de cirrhose chez plus de 22 % des patients. En fait, l'histoire naturelle de l'infection à VHC chez l'hémodialysé est difficile à apprécier, compte tenu d'un taux plus élevé de morbidité et de mortalité par rapport à la population générale. Deux études ont montré un risque accru d'hépatocarcinome chez les hémodialysés infectés par le VHC (74) et plusieurs études ont montré que la mortalité des patients hémodialysés anti-VHC (+) était

supérieure à celle des patients hémodialysés anti-VHC (-).(75) Après transplantation rénale, il a été observé une élévation de la concentration sérique de l'ARN VHC et une évolution plus sévère de l'hépatopathie.(76)

Une étude longitudinale a montré que la progression de la fibrose après transplantation rénale n'était pas liée à l'élévation de la virémie ou au génotype VHC mais à une faible diversification des populations virales.(77) Il importe de noter toutefois que la survie des transplantés rénaux anti-VHC (+) est supérieure à celle des patients hémodialysés anti-VHC (+).(78)

2.4. Circonstance de transmission

- Contamination du générateur de dialyse (capteurs de pression)
- Contamination des surfaces de l'environnement

Lors de deux épidémies survenues dans des centres d'hémodialyse aux USA dans les années 1999-2000, la séroconversion d'un certain nombre de patients a pu être associée au fait de bénéficier d'un traitement d'hémodialyse directement après un patient infecté. De nombreuses occasions de contaminations de patient à patient ont alors pu être observées :

- Equipement et matériel non désinfectés entre deux patients.
- Utilisation de plateaux communs pour la préparation et la distribution des médicaments aux différents postes de dialyse.
- Partage d'ampoules de médicaments injectables à usage multiple entre les patients et déposées sur les machines de dialyse.
- Poubelles non systématiquement changées, nettoyées et désinfectées entre les patients.
- Surfaces des machines non systématiquement désinfectées entre les patients.
- Délai d'attente du nettoyage des projections de sang.
- Chariots circulant entre les différents postes de dialyse sur lesquels sont disposés à la fois du matériel propre et du matériel contaminé par du sang (containers pour matériel piquant/tranchant, monovettes de sang). (68)

2.5. Histoire naturelle de l'infection par HCV chez les patients hémodialysés

HD

L'histoire naturelle de l'infection HCV chez des patients HD est difficile à évaluer. La date de contamination est rarement connue et l'infection peut évoluer silencieusement pendant des dizaines d'années. Chez des patients HD et virémiques, l'activité sérique des ALAT seule ne

permet pas de prédire l'évolution vers la fibrose. En effet, les patients peuvent développer des lésions hépatiques malgré une activité sérique des ALAT normale. La gravité de la maladie hépatique avant transplantation serait un facteur de l'évolution de la pathologie rénale terminale post-transplantation. Dans ces conditions, l'évaluation de l'atteinte hépatique est fortement recommandée avant transplantation rénale. La fréquence de fibrose hépatique ou de cirrhose est de 5 à 32% selon les séries étudiées. Chez ces patients, l'infection par HCV est plutôt bénigne à modérée, et habituellement plus bénigne que chez des patients non HD. Les lésions hépatiques moins fréquentes chez ces patients peuvent être expliquées par un statut immunitaire altéré, une charge virale plus faible probablement due aux dialyses successives et à la rétention des particules virales à la surface des membranes de dialyse, à une libération prolongée de facteur de croissance hépatocytaire impliqué dans la régénération du foie, et à la production endogène d'interféron- α suite à l'utilisation de membranes celluloseuses ou synthétiques, qui peut réduire la virémie HCV. Plusieurs études ont cherché à évaluer la survie des patients HD infectés par le HCV. Une étude prospective multicentrique a été réalisée au Japon chez 1470 patients HD, dont 276 étaient anticorps (Ac) anti-HCV positif (+).

Après un suivi de 6 ans, la mortalité était significativement plus élevée chez des patients anti-HCV positifs que chez les patients Ac anti-HCV (-) (23 versus 33%). CHC (5 versus 0 %) et cirrhose (8,8 versus 0,4%) étaient des causes de décès significativement plus fréquentes chez les patients Ac anti-HCV (+). L'étude DOPPS (Dialysis outcomes and practice patterns study) réalisées sur 16 720 patients HD recrutés aux Etats-Unis, en Europe et au Japon a rapporté un risque relatif de 1,17 (statistiquement significatif) associant séropositivité anti-HCV et mortalité.

Une méta-analyse rassemblant 3 études prospectives et une rétrospective a également conclu que la présence d'Ac anti-HCV était un facteur de risque indépendant et significatif de mortalité chez les patients HD. Le risque relatif déterminé dans cette étude était de 1,57. Donc, l'augmentation du risque de mortalité chez les patients HD Ac anti-HCV (+) pourrait être partiellement liée à la pathologie hépatique sous-jacente. (55)

3. Diagnostic de l'hépatite virale C chez les hémodialysées

3.1. Diagnostic dans la population générale

Le test de diagnostic le plus utilisé est la recherche des anticorps dirigés contre les protéines virales par méthode indirecte, notamment par ELISA. Ce test utilise une plaque imprégnée de protéines du virus. Le sérum du patient est ajouté à cette plaque. Si ce sérum contient un anticorps anti-VHC, ce dernier va se fixer aux protéines virales. Ce complexe est détecté ensuite par un anticorps spécifique et cette fixation va entraîner un changement de coloration du marqueur.

La sensibilité de l'ELISA est proche de 100 % chez les immunocompétents mais peut être faussement négative ou positive chez les immunodéprimés et au cours des maladies auto-immunes (79) Cependant, un anti-VHC positif ne renseigne pas sur le caractère aigu ou chronique de l'infection et encore peut être faussement positif. Pour cela, il est indispensable de réaliser un test de confirmation par la recherche d'acide nucléique. Ce test direct pourra faire la part entre une infection guérie quand la recherche est négative et une infection évolutive quand on détecte l'acide ribonucléique (ARN) viral.

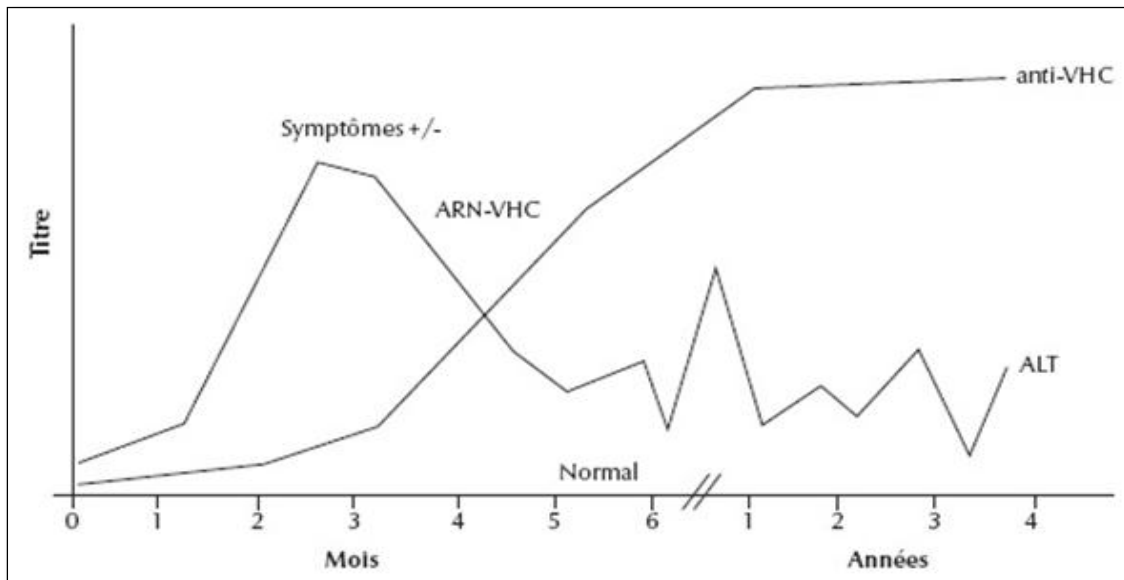


Figure 22 : Cinétique des marqueurs biologiques au cours de l'hépatite virale C. (VHC : virus de l'hépatite C, ARN : acide ribonucléique, ALT : alanine aminotransférase). (80)

Dans ce cadre, plusieurs tests ont été développés avec un seuil de détection qui ne cesse de baisser, en particulier la PCR (Polymerase Chain Reaction) en temps réel avec un seuil qui atteint 12 UI/mL. Ces tests directs sont sensibles mais ne sont pas toujours disponibles et posent le problème de coût élevé. Il fallait donc trouver d'autres marqueurs fiables et reproductibles,

surtout dans les laboratoires où on ne dispose pas de techniques de biologie moléculaire. Pour cela, Tanaka et al. ont évalué un nouveau test biologique qui permet de détecter l'antigène core du virus et ont trouvé une corrélation linéaire entre les concentrations de l'antigène core et de l'ARN pour les génotypes 1, 2 et 3 (80) Cette recherche a été ensuite combinée avec la recherche d'anticorps pour développer le test ELISA 4e génération.

À travers ces moyens de diagnostic direct et indirect, on a pu identifier, avec presque certitude, l'histoire naturelle du VHC dans la population générale. Malgré ces moyens de plus en plus sensibles, Lerat et al. ont mis en évidence une nouvelle entité biologique qui échappe aux moyens de diagnostic direct et indirect : l'hépatite C occulte. (81) Les auteurs ont recherché l'ARN viral dans le tissu hépatique et dans les cellules mononucléées périphériques chez 100 patients ayant une élévation inexplicquée des transaminases et chez lesquels la recherche d'anticorps et de l'ARN viral dans le sérum était négative : 57 % avaient l'ARN viral au niveau de leur tissu hépatique.

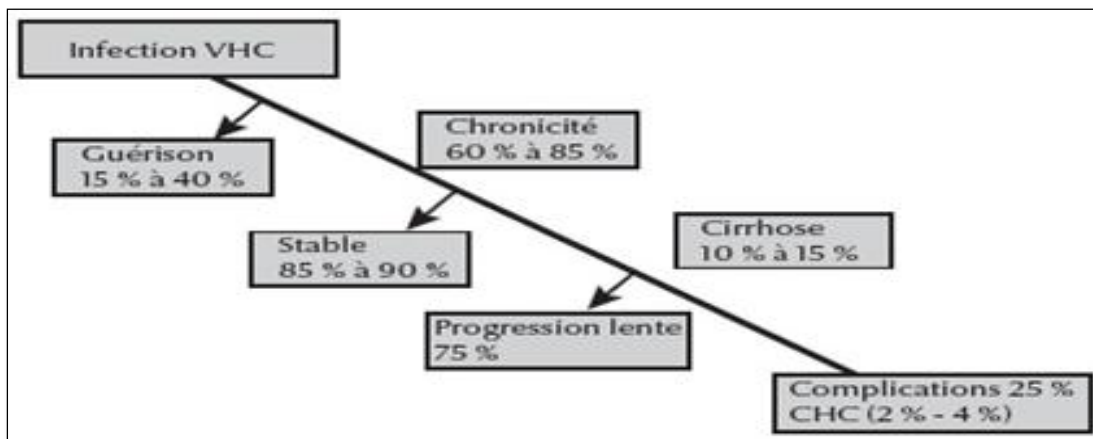


Figure 23 : Histoire naturelle de l'hépatite virale C. (CHC : carcinome hépatocellulaire). (81)

3.2. Diagnostic chez l'hémodialysé chronique

L'histoire naturelle de l'hépatite virale C chez l'hémodialysé est, par contre, caractérisée par une évolution à bas bruit. En effet, et comme l'ont démontré Fabrizi et al. depuis 10 ans, le taux des transaminases est bas au cours de l'insuffisance rénale chronique (IRC). (82) Cette diminution a été attribuée à la carence en vitamine B6 et à la présence de toxines urémiques dans le sang qui pourrait altérer la détection des transaminases. (83) Cependant, on a remarqué que malgré cette baisse, le taux des transaminases est élevé chez les patients IRC porteurs d'une hépatite C en comparaison avec les anti-VHC négatifs même dans la fourchette normale du

laboratoire. Gouveia et al. ont comparé le taux d'ALAT (alanine aminotransférase) chez 202 hémodialysés dont 15 anti-VHC positifs.(84) Les auteurs ont constaté que le rapport des ALAT sur la limite supérieure de la normale est de 0,7 chez les patients infectés par le virus. Ils ont conclu qu'un taux dépassant 70 % de la limite supérieure normale du laboratoire est fortement prédictif d'hépatite virale C avec une sensibilité de 67 % et une spécificité de 75 %.

Comme dans la population générale, le diagnostic de l'hépatite virale C par les anticorps anti-VHC est confronté à de faux positifs et de faux négatifs, avec un taux de 4 % et 9 % respectivement. (85) On peut donc conclure que la PCR est le moyen idéal pour détecter précocement une hépatite C. Cependant, la recherche d'ARN viral n'est pas toujours disponible aux laboratoires, surtout en périphérie, et a un impact économique considérable. Fabrizi et al. ont voulu savoir si l'antigène du virus de l'hépatite C peut améliorer la situation. Ils ont constaté que dans la population des hémodialysés aussi, il y avait une corrélation linéaire entre l'antigène core et l'ARN viral.(86) Ce travail confirme la fiabilité et la forte sensibilité du test ELISA de 4^e génération chez les hémodialysés. Sur le plan pratique, l'apport de ce test a été étudié récemment en Inde chez 250 hémodialysés chroniques(HDC). (87) Dans ce travail, on a remarqué que 13 patients négatifs pour l'anticorps contre le virus de l'hépatite C (Ac anti-VHC) ont été détectés par l'antigène core malgré la faible charge virale. Les auteurs ont suivi ces patients pendant six mois et ont constaté que ce test a permis le diagnostic précoce de quatre patients (six mois avant).

Malgré tous ces moyens, de plus en plus pertinents, l'hépatite virale C est peut être sous-estimée en hémodialyse. ont recherché l'infection par le virus de l'hépatite C occulte chez 109 patients ayant une élévation des enzymes hépatiques inexplicée. (88) L'ARN viral a été recherché dans les cellules mononucléées sanguines périphériques. Cette recherche était positive chez 45 patients et 26 patients seulement étaient positifs par PCR en temps réel. Alors que faire pour dépister le VHC en hémodialyse ?

3.2.1. Recommandations de dépistage

Un grand nombre d'experts en la matière se sont réunis dans le cadre de la Fondation KDIGO (Kidney Disease : Improving Global Outcomes) pour établir des recommandations concernant la prévention, le diagnostic, l'évaluation et le traitement de l'hépatite virale C.(89) Selon ces recommandations, les patients en hémodialyse chronique (maladie rénale chronique stade 5D) doivent être testés pour le VHC à l'initiation de l'hémodialyse ou lors du transfert d'une autre unité d'hémodialyse (recommandation forte). Reste le moyen de diagnostic ou de dépistage : faut-il rechercher l'anticorps ou l'ARN viral ? Dans les études publiées, la sensibilité des

méthodes immuno-enzymatiques varie entre 53 et 100 % et la spécificité entre 85 et 99 %. Si on considère la prévalence au centre de dialyse, on ne constate que le nombre de faux négatifs augmente avec la prévalence de l'hépatite C dans le centre. De plus, selon une étude réalisée par les Centers for Disease Control and Prevention (CDC), le coût du dépistage augmente en cas de recherche d'acide nucléique, en particulier si la prévalence est basse.(90) En s'appuyant sur ces deux considérations, on recommande que dans les unités d'hémodialyse où la prévalence du VHC est basse, la recherche du virus devrait être initiée par un test immuno-enzymatique (suivi en cas de positivité par un test moléculaire à la recherche de l'ARN du VHC) (recommandation modérée). Dans les unités d'hémo-dialyse où la prévalence du VHC est élevée, un test moléculaire doit être envisagé d'emblée (recommandation modérée).

Pour le suivi, il est conseillé de retester tous les 6 à 12 mois par test immuno-enzymatique les patients en hémodialyse qui sont négatifs pour le VHC (recommandation modérée) et un test moléculaire pour le VHC doit être réalisé chez les patients hémodialysés qui ont une élévation inexplicée des transaminases plasmatiques (recommandation forte). Cependant, si un nouveau cas d'infection VHC dans une unité d'hémodialyse est suspecté d'être nosocomial, tous les patients qui pourraient avoir été exposés au VHC doivent être soumis à un test moléculaire (recommandation forte). Un deuxième test moléculaire est suggéré 2 à 12 semaines après un premier test négatif (recommandation faible). Un algorithme a été également proposé par ces experts, dans lequel on a repris toutes ces recommandations.

3.3. Cinétique des marqueurs sériques du VHC

Le délai d'apparition des anticorps anti-VHC est en moyenne de 10 semaines après le contagé. Avant l'apparition des anticorps anti-VHC, période dite « sérologiquement muette », l'ARN du VHC est détectable par PCR. Les premiers anticorps décelables sont les anticorps dirigés contre la capsid ou la protéine NS3 ; puis, au cours du temps, le profil sérologique s'enrichit avec l'accentuation de la positivité des réactivités déjà présentes ou l'apparition d'autres réactivités. Chez les sujets immunocompétents chroniquement infectés (ARN sérique du VHC positif), les anticorps anti-VHC persistent. Après la séroconversion, le profil Riba reste stable, avec, le plus souvent, trois ou quatre réactivités anti-VHC. Mais chez certains sujets, le profil Riba se stabilise à deux spécificités anticorps, voire une seule. Dans ces deux derniers cas, les anti-capsides et les anti-NS3 sont les anticorps les plus fréquemment détectés.

En cas d'évolution favorable de la maladie (spontanément ou après traitement), la recherche de l'ARN du VHC se négative. En revanche, la positivité des anticorps anti-VHC persiste, témoin du contact avec le VHC. L'arrêt de la stimulation antigénique dû à l'extinction de la

réplication du VHC entraîne à terme une diminution du titre des anticorps anti-VHC. La rapidité de cette diminution est variable. Elle pourrait être fonction de la durée de la réplication du VHC mais aussi de la réponse immunitaire individuelle. Des cas de « séroréversion » ont été décrits dans la littérature.(91) L'évolution favorable de l'infection est alors corrélée à une évolution du profil Riba vers une faible positivité, voire une négativité.

4. Traitement de l'hépatite C

En l'absence de vaccin contre le VHC, l'objectif du traitement chez les porteurs chroniques du virus est d'avoir une charge virale indétectable. Le traitement actuel de l'hépatite C consiste en une combinaison de deux molécules : l'IFN- α -pégylé et la ribavirine. Au cours du traitement contre le VHC trois types de réponses peuvent être obtenus. En effet, on distingue la réponse virologique soutenue (SVR) où l'ARN du virus est indétectable pendant le traitement et durant au moins 6 mois après l'arrêt de celui-ci. Cette réponse est durable pour 95% des patients, et une amélioration histologique du foie est observée, avec notamment une diminution de l'inflammation.

Il y a aussi la réponse transitoire, conséquence d'une durée ou des doses thérapeutiques mal adaptées. Dans ce cas, la charge virale devient indétectable pendant le traitement mais l'ARN de VHC est à nouveau détectable dans les 6 mois suivant son arrêt. Le traitement n'est donc pas efficace à long terme. Le troisième cas de figure probable est la non-réponse au traitement où la charge virale reste quantifiable pendant toute la durée du traitement.

La durée, la nature du traitement et la réponse à celui-ci sont fonction de plusieurs facteurs.

4.1. Facteurs liés au VHC

C'est un facteur important dans la réponse au traitement. Les génotypes du VHC peuvent être classés dans l'ordre décroissant de leur sensibilité au traitement à l'interféron de la façon suivante : 2a, 2b, 3, 4, 1a et 1b. L'objectif d'une charge virale indétectable peut être atteint dans 80% des cas chez les individus infectés par des génotypes dits « favorables » (génotypes 2 et 3) mais cette probabilité de succès diminue considérablement (environ 40%) chez les personnes infectées par les génotypes « défavorables » (génotypes 1 et 4).

La durée de traitement varie en fonction du génotype. Pour les individus infectés par les types 1, 4, 5 et 6, le traitement a une durée préconisée de 48 semaines. Dans ce cas, une quantification de la charge virale est réalisée au début du traitement et à la 12^{ème} semaine (S12). Si une réponse virologique précoce est obtenue (c'est-à-dire une diminution ≥ 2 log de la charge virale), le traitement est poursuivi jusqu'à la 24^{ème} semaine (S24). Une recherche de l'ARN est alors effectuée à cette période ; si l'ARN est négatif, le traitement est poursuivi jusqu'à la 48^{ème} semaine. En l'absence d'une réponse virologique précoce à S12 ou en cas de persistance de

l'ARN du VHC à S24, le traitement antiviral peut être interrompu si l'objectif de celui-ci est d'obtenir une réponse virologique.

Chez les patients infectés par les types 2 et 3, la durée du traitement est plus courte (24 semaines) et est aussi caractérisée par une évaluation virologique à la fin du traitement. Une quantification de l'ARN du VHC est aussi recommandée à la 4^{ème} semaine, car permettant de réduire la durée du traitement chez les patients répondeurs.

4.2. Facteurs liés à l'hôte

L'issue du traitement pourrait être également influencée par des facteurs génétiques liés à l'hôte. Des études antérieures avaient rapporté qu'une mutation du gène IL28B situé sur les chromosomes 19 et codants pour l'IFN- α , avait une influence sur la réponse au traitement et la cinétique de la réplication du VHC. En effet, la présence d'un polymorphisme CC sur le gène IL28B était associée à un taux élevé de succès du traitement, notamment chez les personnes infectées par les génotypes 1 et 4. La fréquence des allèles varie en fonction du groupe racial, le polymorphisme CC étant plus fréquent chez les asiatiques que chez les populations africaine et américaine. Cela explique partiellement les différences dans la réponse à la thérapie antivirale entre les différentes races. L'âge de l'individu infecté peut aussi influencer sur le traitement. En effet une réduction significative de la charge virale du VHC par le traitement a été observée chez les patients d'un âge jeune (inférieur à 40 ans) par rapports aux individus âgés de plus de 40 ans. Chez les petits enfants, la charge virale indétectable est obtenue dans 65% des cas, le génotype viral en cause dans l'infection étant le prédictateur majeur de la réponse au traitement (génotype 1 : 53% ; génotype 2/3 : 93% ; génotype 4 : 80%). D'autres facteurs tels que l'obésité, la co-infection avec le VIH et /ou le VIH peuvent également influencer sur la réponse thérapeutique.

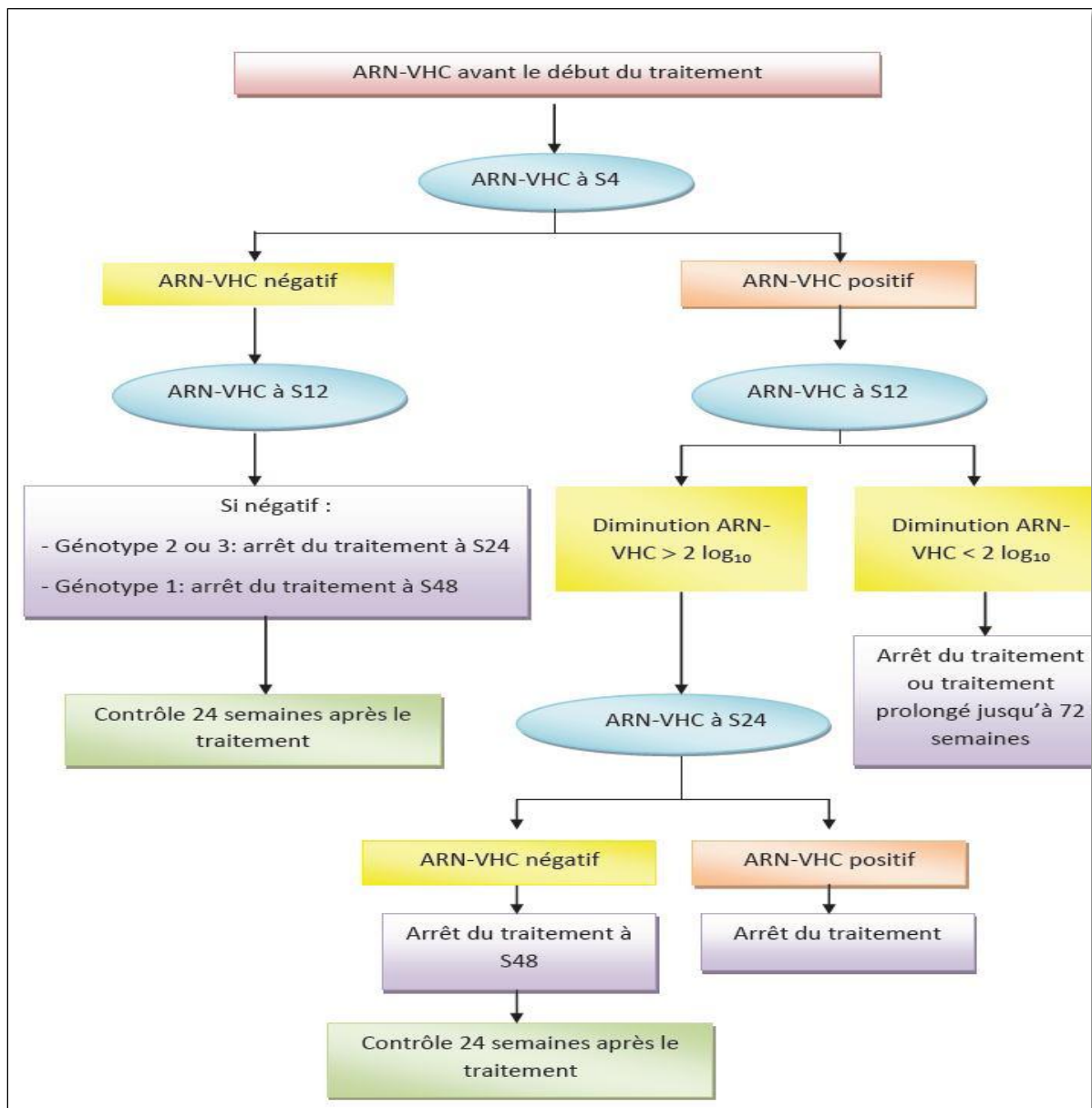


Figure 24 : Algorithme de traitement du VHC. (54)

Le traitement à l'interféron et à la ribavirine permet de rendre la charge virale du VHC indétectable après 24 semaines de thérapie dans la plupart des cas d'infections. Mais ce résultat est mitigé s'agissant des génotypes 1 et 4. De plus le traitement à base de ces molécules est long et n'est pas dépourvu d'effets secondaires. L'IFN- α et la ribavirine sont contre-indiqués chez la femme enceinte à cause de leur effet tératogène potentiel. Aussi, la ribavirine est toxique à fortes doses (risques d'anémie dès les 4 premières semaines de traitement, car l'accumulation de formes phosphorylées de la ribavirine dans les hématies entraîne une hausse de leur sensibilité au stress oxydatif et leur hémolyse. L'avancée majeure dans la connaissance du cycle cellulaire et de l'architecture structurale des protéines du VHC, obtenue grâce aux systèmes de culture reproductibles et aux analyses cristallographiques, ont donc permis le développement d'agents antiviraux directement actifs (DDA) précédemment connus sous l'expression « traitements ciblés

sur les composantes du virus de l'hépatite C » (STAT-C). En effet dans cette nouvelle forme de thérapie, chacune des protéines structurales et non structurales du VHC ainsi que les structures de son ARN, sont les cibles de ces molécules « DDA ». (54)

Partie 2 :
Partie pratique

1. Lieu et but du stage

1.1. Lieu du stage

Le stage est réalisé dans établissement hospitalier spécialisé : la clinique d'urologie-néphrologie et transplantation rénale « Bouchrit Abd Alkader » de Constantine ; au niveau du Laboratoire de Bacteriologie.



Figure 25: la clinique d'urologie-néphrologie et transplantation rénale « Bouchrit Abd Alkader » de Constantine.

1.2. Le but du stage

La maîtrise de la technique ELISA utilisé au niveau de la clinique pour la recherche des virus transmissibles par le sang entre les patients hémodialysés, et pour bien connaitre le test VHB et VHC et faire des statistiques à propos des malades hémodialysés atteints d'hépatite B et C dans cette clinique.

2. La chaine ELISA

2.1. Historique

La technique d'ELISA a été conceptualisée et développée par deux scientifiques suédois, Peter Perlmann (investigateur principal) et Eva Engvall à l'Université de Stockholm en 1971.

A la fin des années 60, Stratis Avrameas et GB Pierce mettent au point la technique d'immuno-enzymologie, technique d'analyse par réaction entre antigènes et anticorps et utilisant comme marqueur des enzymes.

2.2. Le but de la technique ELISA

ELISA ou (Enzyme Linked Immuo Sorbent Assay) est une technique pour la détection des antigènes ou des anticorps, dans le plasma ou le sérum humain, spécifique au virus recherché.

2.3. Le principe de la technique ELISA

La phase solide est sensibilisée avec des anticorps monoclonaux.

Les conjugués sont basés sur l'utilisation des anticorps monoclonaux de souris et des anticorps polyclonaux de chèvre contre l'Ag. Ces anticorps sont couplés à la peroxydase.

Le dosage comprend les étapes suivantes :

1- Distribution des échantillons et des sérums de contrôle dans les cupules de la microplaque. Cette distribution peut être contrôlée visuellement : en effet, il y a une nette différence de coloration entre une cupule vide et une cupule contenant un échantillon. Elle peut être aussi contrôlée par lecture spectrophotométrique à 490/620-700 nm (optionnel).

2- Distribution du conjugué :

Cette distribution peut être également contrôlée visuellement : en effet, après rajout du conjugué initialement coloré, la cupule se colore avec la même couleur. Elle peut être contrôlée par lecture spectrophotométrique à 490/620-700 nm (optionnel), la distribution des échantillons peut aussi être contrôlée à ce stade de la manipulation par lecture spectrophotométrique à 490/620-700 nm.

3- Après incubation à 37°C, le conjugué non lié est éliminé par lavage.

4- Distribution de la solution de révélation de l'activité enzymatique.

Cette distribution peut être également contrôlée visuellement : il y a une nette différence de coloration entre une cupule vide et une cupule contenant le substrat. Elle peut être contrôlée par lecture spectrophotométrique à 490 (optionnel).

5- Après 30 minutes d'incubation en présence du substrat à l'obscurité et à température ambiante (18-30°C), la présence du conjugué est révélée par un changement de couleur.

6- Distribution de la solution d'arrêt.

Cette distribution peut être également contrôlée visuellement : 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.

7- Lecture des densités optiques à 450/620-700 nm et interprétation des résultats.

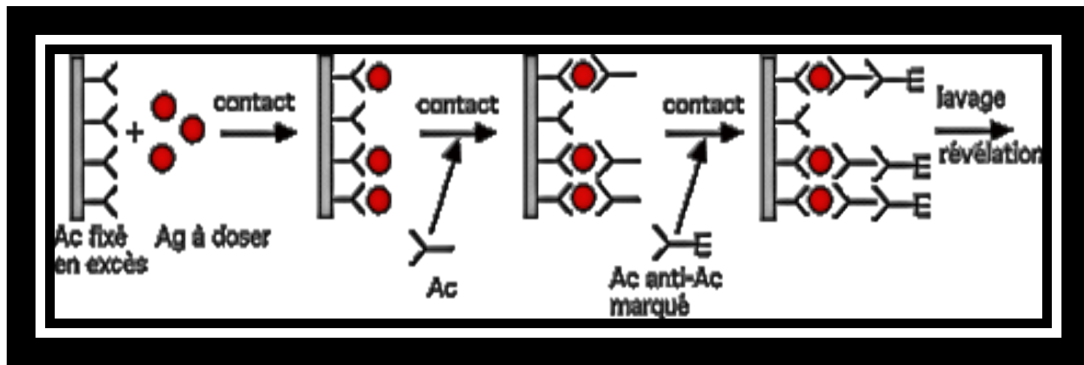


Figure 26: schéma générale présente le principe de la chaîne ELISA.

2.4. Le matériel de la chaîne ELISA

a- Incubateur/agitateur de microplaques

- Appareil pour faire incuber les microplaques à température avec évaporation réduite et avec agitation.
- Constitué de trois chambres, chaque chambre peut contenir une seule microplaque.
- Une large gamme de température réglable.



Figure 27 : Incubateur de la chaîne ELISA.

b- Laveur

- Appareil permettant le lavage automatique des plaques de micro-titrage.
- Lavage des microplaques en automatique et programmable.
- Programmé à trois lavages successifs.
- Avec deux types d'aiguilles : aiguilles longues pour l'absorption, et autres courtes pour la distribution des solutions.



Figure 28 : Laveur de la chaîne ELISA.

Livré avec :

- Tête de lavage de canaux.
- Kit de réservoirs pour solution de lavage et pour déchets.
- Tuyaux.



Figure 29: réservoir pour la solution de lavage.

c- Lecteur ou spectrophotomètre

- Appareil pour la lecture des plaques de microtitration réalisant des tests immuno-enzymatiques (ELISA).
- Spectrophotomètre programmable.
- Au moins trente (30) programmes en mémoire.
- Acceptant tous les types de micro-plaques (à fond rond, à fond plat et fond en V)
- Large gammes d'ondes.



Figure 30 : Spectrophotomètre de la chaîne ELISA.

d- Imprimante

- Pour imprimer les résultats lus par le spectrophotomètre.

Livré avec :

- Cordon de liaison de lecteur.
- Lot de papier.



Figure 31: Imprimante de la chaîne ELISA.

3. La recherche des virus majeurs transmissibles par le sang

On utilise pour le dosage des 2 virus (VHB et VHC), des trousse de composition spécifique destinée à cette recherche commercialisée par une société spécialisée en biotechnologie.

N.B : les trousse qui sont utilisés dans ce dosage sont de la société « BIO-RAD »

3.1. L'échantillonnage

3.1.1. Réception des échantillons

Il faut s'assurer que toutes les requêtes et les échantillons soient identifiés correctement et lisiblement.

L'échantillon doit obligatoirement posséder une double identification :

- Le nom et prénom du patient.
- Le numéro d'assurance maladie ou La date de naissance ou Le numéro de dossier de l'hôpital du patient.

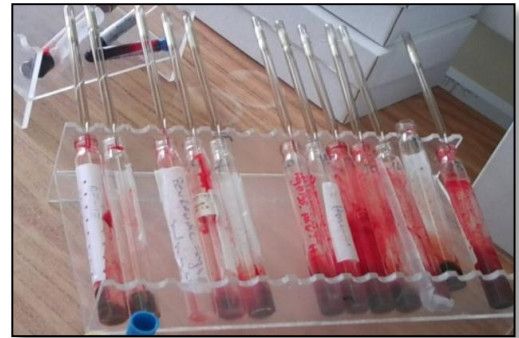


Figure 32 : la coagulation pour la séparation du caillot de sang du plasma.

3.1.2. Manipulations des échantillons

Le test doit être réalisé sur du sérum non dilué ou plasma (recueilli avec EDTA, l'héparine, le citrate, anticoagulants ADC-base). Séparer le sérum ou le plasma du caillot ou de globules rouges dès que possible pour éviter toute hémolyse, l'hémolyse importante peut affecter les performances d'essai.



Figure 33: la séparation du plasma et des caillots de sang.

Dès qu'il y a une coagulation observable, il faut séparer le plasma des caillots de sang.



Figure 34 : la centrifugation des échantillons à l'aide d'une centrifugeuse.

Les échantillons de matière particulaire observables doivent être clarifiés par des essais de centrifugation

Après la centrifugation le sérum est retiré à l'aide d'une micropipette, pour le transférer dans un tube à essais identifié près à la manipulation.



Figure 35 : L'accueil du sérum à l'aide d'une micropipette.

Les particules en suspension ou des agrégats de fibrine peuvent donner des résultats faussement positifs.

Ne pas chauffer les échantillons. Les échantillons peuvent être conservés à 2-8 ° C si le dépistage est effectué dans les 7 jours ou ils peuvent être surgelés à -20 ° C pendant plusieurs mois. Le plasma doit être décongelé rapidement par le réchauffement de quelques minutes dans un bain-marie à 40 ° C (pour éviter la précipitation de fibrine); Ne répétez pas plus de 3 cycles de congélation/décongélation.

Si les échantillons doivent être livrés, ils doivent être conditionnés conformément à la réglementation en vigueur concernant le transport d'agents étiologiques.

Remarque : Les échantillons hémolysés contenant jusqu'à 10 g / l d'hémoglobine n'affectent pas les résultats.

4. Dépistage du VHB

4.1. Le but du dépistage

Monolisa™ HBs Ag ULTRA est une technique immuno-enzymatique de type "sandwich" pour la détection de l'antigène de surface du virus de l'Hépatite B (Ag HBs) dans le sérum ou le plasma humain.

- **La composition de la trousse**

Tableau 04: composition de la trousse destinée au dosage du VHB.

Etiquetage :	Nature des réactifs :
R1	Microplaque 12 barrettes de 8 cupules sensibilisées avec des anticorps monoclonaux anti-HBs (souris)
R2	Solution de lavage concentrée (20X) Tampon tris, NaCl, pH = 7,4
R3	Contrôle négatif Tampon Tris HCl, contenant de la SAB

R4	Contrôle positif (Humain) Tampon Tris HCl, contenant de la SAB, additionné d'un mélange d'Ag HBs purifiés des sous-types ad et ay, (humains).
R6	Diluant conjugué Tampon Tris HCl pH 7.4 additionné de BSA, de Tween® 20, d'immunoglobulines de bœuf et de souris et d'un indicateur coloré témoin de dépôt.
R7	Conjugué Anticorps monoclonaux anti-HBs de souris et anticorps polyclonaux anti-HBs de chèvre couples a la peroxydase, Lyophilisée .
R8	Tampon substrat de la peroxydase Solution d'acide citrique et d'acétate de sodium pH 4,0 contenant 0,015% d'H ₂ O ₂ et 4% de dimethylsulfoxyde (DMSO)
R9	Chromogène coloré en rose : solution contenant du tetramethyl benzidine (TMB)
R10	Solution d'arrêt Solution d'acide sulfurique 1 N



Figure 36 : La trousse de Monolisa™ HBs Ag ULTRA.

- **Reconstitution des réactifs**

- Solution de lavage (concentrée 20X) : Réactif 2 (R2)

Diluer au 1/20e la solution de lavage R2 dans de l'eau distillée. Préparer 800 ml pour une microplaque de 12 barrettes.

- Conjugué (R6 + R7) :

Taper doucement le flacon de conjugué lyophilisé (R7) sur la paillasse pour détacher toute substance pouvant adhérer au bouchon de caoutchouc.

Ouvrir le flacon de conjugué lyophilisé (R7) et y transvaser le contenu d'un flacon de diluant pour conjugué (R6).

Reboucher et laisser reposer 10 minutes en homogénéisant de temps en temps pour faciliter la dissolution.

- Solution de révélation enzymatique (R8 + R9) :

Diluer le réactif R9 dans le réactif R8 au 1/11ème (exemple : 1 ml de réactif R9 dans 10 ml de réactif R8) sachant que 10 ml sont nécessaires et suffisants pour traiter 12 barrettes. Cette solution reste stable 6 heures à l'obscurité.

- **Mode opératoire**

1. Etablir soigneusement le plan de distribution et d'identification des échantillons.



Figure 37 : Identification des échantillons avant manipulation.

2. Distribuer dans les cupules dans l'ordre suivant :

- Cupules A1, B1, C1 et D1 : 100 μ l de contrôle négatif (R3)
- Cupule E1: 100 μ l de contrôle positif (R4)
- Cupule F1:100 μ l 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 μ l d'échantillons à tester.

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

La distribution des échantillons peut être contrôlée à ce stade de la manipulation, en effet il y a une nette différence de coloration entre une cupule vide et une cupule contenant de l'échantillon.

3. Secouer la solution du conjugué avant utilisation, homogénéiser, Distribuer rapidement 50 μ l de la solution reconstituée de conjugué (R6 + R7) dans toutes les cupules. Homogénéiser le mélange réactionnel.



Figure 38 : Ajout des sérums (et témoins positifs et négatifs) et le conjugué.

4. Lorsque cela est possible recouvrir d'un film adhésif et incuber pendant 1 heure et 30 ± 5 minutes à $37 \pm 1^\circ\text{C}$.
5. Retirer le film adhésif, et passer la microplaque dans le laveur programmé à 6 lavages.
6. Distribuer rapidement dans toutes les cupules 100 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.

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.

7. 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.

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.

8. Essuyer soigneusement le dessous des plaques. 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.

9. 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.



Figure 39 : Lecture de la densité optique au microscope.

- **Calcul et interprétation des résultats**

- Calcul de la densité optique moyenne du contrôle négatif : DO R3

Exemple :

Contrôle négative R3	DO
1	0,027
2	0,029
3	0,034
4	0,030

Total DO R3 = 0,120

Total DO R3 /4 = 0.030 = moyenne DO R3

- Calcul de la valeur seuil :

Pour chaque plaque, la valeur seuil est égale à : DO R3 + 0,050

Exemple :

DO R3 = 0,030

Valeur seuil (VS) = 0,030 + 0,050 = 0,080

- Conditions de validation du test :

Toutes les valeurs du contrôle négatif doivent être inférieures ou égales à 0,080 unité de densité optique.

La valeur du contrôle positif (DO R4) doit être supérieure ou égale à 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 inférieures à 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.

- Calcul des ratios :

Pour chaque échantillon, calculer le ratio :

$$\text{Ratio} = \frac{\text{DO échantillon}}{\text{VS}}$$

- Interprétation des résultats :

Les échantillons dont le ratio est inférieur à 1 sont considérés négatifs d'après le test Monolisa™ HBs Ag ULTRA.

Les échantillons dont le ratio est compris entre 0,9 et 1 doivent être interprétés avec prudence. Il est conseillé de retester les échantillons correspondants en double lorsque les systèmes utilisés et les procédures du laboratoire le permettent.

Les échantillons dont le ratio est égal ou supérieur à 1 sont considérés comme initialement positifs et doivent être retestés en double avant l'interprétation finale.

Si après répétition de l'essai, pour un échantillon, le ratio des 2 doublets est inférieur à 1, le résultat initial est non reproductible et l'échantillon est déclaré négatif selon le test Monolisa™ HBs Ag ULTRA.

Pour les échantillons initiaux réactifs ou douteux ($0,9 < \text{ratio} < 1$), après répétition de l'essai, si au moins un ratio des 2 doublets est égal ou supérieur à 1, le résultat initial est reproductible et l'échantillon est déclaré positif selon le test Monolisa™ HBs Ag ULTRA, en tenant en compte des limites du test décrites ci-après.

Les échantillons qui ont été retestés en double et trouvés négatifs selon le test Monolisa™ HBs Ag ULTRA, mais pour lesquels une des valeurs est proche de la valeur seuil (ratio entre 0.9 et 1) devraient être considérés avec prudence. Il est conseillé de retester ces patients avec une autre méthode ou sur un autre prélèvement.

Dans le cas de DO très basses pour les échantillons testés (DO négative) et quand la présence des échantillons ainsi que des réactifs est contrôlée, les résultats peuvent être interprétés comme négatifs.

Pour vérifier la spécificité de la réaction, tout échantillon positif selon les critères d'interprétation du test Monolisa™ HBs Ag ULTRA devrait être confirmé par une technique de neutralisation de l'Ag HBs.

- Les réactions non-répétables sont souvent causées par :
 - Lavage des microplaques inadéquat.
 - Contamination des échantillons négatifs du sérum ou du plasma avec une concentration forte en Ag HBs,

- Contamination de la solution de révélation par des agents oxydants (eau de javel, ions métalliques, etc.).
- Contamination de la solution d'arrêt.

5. Dépistage du VHC

5.1. But du dépistage

Monolisa™ HCV Ag-Ab ULTRA est un test immuno-enzymatique pour la mise en évidence de l'infection à VHC basé sur la détection des anticorps et de l'antigène de capsid associés à une infection par le virus de l'hépatite C dans le sérum ou le plasma humain.

5.2. La composition de la trousse

Tableau 05 : composition de la trousse de « BIO-RAD » destinée au dosage du VHC.

Etiquetage :	Nature des réactifs :
R1	Microplaque 12 barrettes sensibilisées avec un anticorps monoclonal anti-capsid du VHC et des antigènes recombinants purifiés (NS3, NS4) et un peptide muté de la région capsid du VHC
R2	Solution de lavage concentrée (20x) Tampon Tris NaCl pH 7,4.
R3	Contrôle négatif Tampon Tris HCl, contenant de la SAB.
R4	Contrôle positif Sérum humain contenant des anticorps anti-VHC et négatif pour l'antigène HBs et pour les anticorps anti-HIV1 et anti-HIV2 dilué dans un tampon Tris HCl contenant de la S.A.B., inactivé photochimiquement.
R5a	Contrôle antigène positif Antigène positif synthétique de contrôle contenant un peptide de capsid lyophilisé.
R5b	Diluant du contrôle antigène Diluant du R5a.

R6	Conjugué 1 Anticorps monoclonal murin dirigé contre la capsid du VHC marqué à la biotine. Coloré en violet.
R7	Conjugué 2 Anticorps murins anti-IgG humaines marqués à la peroxydase et streptavidine marquée à la peroxydase. Coloré en vert.
R8	Tampon substrat de la peroxydase Solution d'acide citrique et d'acétate de sodium pH 4,0 contenant 0,015% d'H ₂ O ₂ et 4% de diméthylsulfoxyde (DMSO).
R9	Chromogène Solution contenant du tétraméthyl benzidine (TMB).
R10	Solution d'arrêt Solution d'acide sulfurique 1 N.



Figure 40 : La composition de la trousse de Monolisa™ HCV Ag-Ab ULTRA.

5.3. Réactifs à reconstituer

- Solution de lavage R2 (20X) :

Diluer 20 fois la solution dans l'eau distillée. On obtient ainsi la solution de lavage prête à l'emploi. Prévoir 800 ml pour une plaque de 12 barrettes.

- Solution de révélation enzymatique (R8 + R9) :

Diluer le réactif R9 dans le réactif R8 au 1/11e (exemple : 1 ml de réactif R9 dans 10 ml de réactif R8) sachant que 10 ml sont nécessaires et suffisants pour traiter 12 barrettes. Homogénéiser.

- Antigène positif de contrôle (R5a + R5b) :

Solution de travail : Remplir le flacon de R5a avec la totalité de la solution du flacon R5b. Reboucher et attendre 10 minutes à température du laboratoire en agitant de temps en temps le flacon par inversion du flacon.

5.4. Mode opératoire

1. Déposer directement, sans pré-lavage de la plaque, successivement :

- 100 µl de conjugué 1 (R6) dans chaque cupule
- 50 µl de contrôle négatif (R3) en A1,
- 50 µl de contrôle positif (R4) en B1,C1, D1,
- 50 µl de la solution de travail de l'antigène positif de contrôle (R5a + R5b) en E 1,
- 50 µl du premier échantillon en F1,
- 50 µl du deuxième échantillon en G1, etc.

2. Homogénéisez le mélange par 3 aspirations minimum ou avec un agitateur de microplaque durant 5 secondes. Si la distribution des échantillons excède 10 mn, il est alors recommandé de distribuer les contrôles négatifs et positifs après les échantillons à tester.

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

Après ajout de l'échantillon, le puits contenant l'échantillon (ou les contrôles) + le conjugué 1 vire du violet au bleu. Il est possible de vérifier par lecture spectrophotométrique à 620 nm la présence des échantillons dans les cupules.

3. Couvrir si possible d'un film autocollant.

4. Incuber la microplaque dans un incubateur sec de microplaques pendant : 90 ± 5 minutes à $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.



Figure 41 : Incubation de la microplaque.

5. Retirer le film adhésif. Passer la microplaque dans un laveur au nombre de 4 lavages successif au minimum.



Figure 42 : Lavage des solutions de la microplaque.

6. Distribuer rapidement 100 μ l de la solution de conjugué 2 (R7) dans toutes les cupules. Le conjugué doit être agité avant emploi. Recouvrir, si possible, d'un film neuf et incuber pendant : 30 ± 5 minutes à $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$. Le conjugué est d'une coloration verte. Il est possible de vérifier par lecture spectrophotométrique à 620 nm la présence du conjugué dans les cupules.

7. Retirer le film adhésif, passer dans le laveur à 5 lavage au minimum comme précédemment.

8. Préparer la solution de révélation.

9. Distribuer rapidement dans toutes les cupules 80 μ l 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.

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.

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

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. 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.

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.

5.5. Calcul et interprétation des résultats

La présence ou l'absence des anticorps anti-HCV et/ou de l'antigène de capsid du VHC est déterminée en comparant pour chaque échantillon l'absorbance enregistrée à celle de la valeur seuil calculée.

- Calculer la moyenne des absorbances mesurées pour le contrôle positif R4 :

Exemple : Contrôle positif R4

Echantillon :	D.O :
B1	1,648
C1	1,637
D1	1,703
Total	4,988

$$\text{DO R4} = \frac{\text{Densité Optique Totale}}{3} = \frac{4,988}{3} = 1,663$$

- Calcul de la valeur seuil (Vs) :

$$\text{Vs} = \frac{\text{Moyenne DO R4}}{4}$$

Exemple : Moyenne DO R4 = 1,663

$$\text{Vs} = \frac{1,663}{4} = 0,415$$

- Les critères de validation sont les suivants :

Pour le contrôle négatif R3 : l'absorbance mesurée doit être inférieure à 0,6 fois la D.O de la valeur seuil.

Pour le contrôle positif R4.

La moyenne des absorbances mesurées doit être supérieure ou égale à 0,800 et inférieure ou égale à 2,400.

Si l'une des valeurs individuelles du contrôle positif s'écarte de plus de 30 % de la moyenne, refaire le calcul avec les deux valeurs de contrôle positif restantes.

Pour la solution de travail de l'antigène positif de contrôle (R5a + R5b).

La densité optique mesurée doit être supérieure à 0.500.

Le test est invalidé si le contrôle négatif R3, la solution de travail de l'antigène positif de contrôle (R5a + R5b), la solution de travail de l'antigène positif de contrôle (R5a + R5b), et/ou plus d'une valeur du contrôle positif R4 sont hors de l'intervalle des valeurs ci-dessus.

- Interprétation des résultats :

Les échantillons dont la densité optique est inférieure à la valeur seuil sont considérés négatifs d'après le test Monolisa™ HCV Ag-Ab ULTRA.

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

Les échantillons dont la densité optique est supérieure ou égale au seuil sont considérés comme initialement positifs et doivent être re-testés en double avant l'interprétation finale.

Après répétition de l'essai, l'échantillon est considéré positif d'après le test Monolisa™ HCV Ag-Ab

ULTRA si la deuxième et/ou la troisième mesure est (sont) positive(s), c'est-à-dire supérieure ou égale à la valeur seuil. L'échantillon est considéré négatif si ces deux valeurs sont trouvées inférieures à la valeur seuil.

6. Avantages et inconvénients de la technique ELISA

6.1. Avantages de la technique ELISA

- L'utilisation d'anticorps monoclonaux rend la détection spécifique.
- Possibilité de quantifier grâce à la réalisation d'une gamme en parallèle.
- L'utilisation d'anticorps secondaires rend la technique sensible.
- Technique accessible à tous les biologistes.
- La détection du signal ne nécessite pas la présence d'appareillage spécialisé.
- La validité des trousseaux est d'environ 1 an.

6.2. Inconvénients de la technique ELISA

- La limite de détection est moins bonne que la technique RIA.
- La réaction enzymatique rend cette technique dépendante de la température, du pH et de l'éclairement. (Magniez Frédéric)

RECOMMANDATIONS ET STATISTIQUES

1. Précautions standards en hémodialyse

1.1. Hygiène des mains

La désinfection des mains à l'aide de solutions à base d'alcool doit se pratiquer avant et après chaque contact avec un patient et son environnement direct (y compris l'appareil de dialyse), ainsi qu'après chaque contact avec un liquide biologique.

1.2. Port de gants

Des gants à usage unique doivent être utilisés dès la connexion du patient à l'appareil de dialyse, jusqu'à la fin de la séance. Ils doivent être changés entre deux patients (ou entre deux lits de dialyse). Suite au retrait des gants, les mains doivent être désinfectées.

1.3. Port de masques et protection oculaire

Ces protections sont indiquées lorsque des projections de liquide biologique sont possibles. Elles doivent être portées lors de la connexion et de la déconnexion du patient à la machine de dialyse et lors de toute rupture des lignes extracorporelles.

1.4. Port de blouses protectrices

Les indications pour le port d'une blouse sont les mêmes que celles d'un masque et d'une protection oculaire.

1.5. Prise en charge des instruments et ustensiles divers

Du matériel à usage unique doit être utilisé dans toute la mesure du possible. Si cela n'est pas possible, le matériel utilisé en dialyse ne devrait l'être que pour un patient et être désinfecté après chaque usage (par exemple appareil de mesure de la tension, thermomètre, glucomètre, etc.).

1.6. Prise en charge de la lessive.

1.7. Prise en charge des déchets

Le matériel à usage unique doit être éliminé après utilisation. Les déchets doivent être traités.

1.8. **Prise en charge de l'environnement du patient**

L'environnement direct du patient doit être nettoyé et désinfecté après chaque séance de dialyse.

1.9. **Protection du personnel**

Les collaborateurs non-immuns contre l'hépatite ne doivent pas s'occuper de patients infectés par ce virus. Tout personnel travaillant en dialyse doit se voir proposer le vaccin contre l'hépatite et un contrôle des anticorps doit être effectué après le vaccin.

1.10. **Placement des patients**

L'espace entre les lits de dialyse doit être suffisant pour permettre la conduite des soins et l'application des précautions standards. Les patients souffrant d'une maladie infectieuse potentiellement contagieuse doivent être dialysés dans une pièce séparée.

1.11. **Préparation et distribution des solutions injectables**

La préparation des médicaments et des solutions injectables doit avoir lieu dans un espace séparé des places de dialyse. Ces préparations doivent ensuite être amenées et administrées individuellement pour chaque patient. Elles ne doivent pas circuler entre les places de dialyse. Une préparation injectable qui a été en contact avec l'environnement direct d'un patient ne peut pas être administrée à un autre patient. Au cas où les médicaments et solutions injectables sont transportés sur un plateau, celui-ci doit être désinfecté après chaque utilisation. Il convient d'être attentif pour éviter toute présence de matériel potentiellement contaminé par le patient ou son environnement, dans la zone propre où l'on prépare les médicaments et solutions injectables.

1.12. **Manipulation et stockage du matériel**

La zone de stockage doit être clairement séparée de la zone de dialyse où une contamination peut survenir. Si un chariot est nécessaire pour le transport du matériel, celui-ci doit rester en dehors de la zone de dialyse et ne doit pas circuler entre les patients. Le matériel contaminé ne doit pas transiter par la zone de stockage.

2. Statistique du VHB/VHC la clinique d’urologie-néphrologie et transplantation rénale « Bouchrit Abd Alkader » de Constantine en Janvier 2014- Mai 2015

2.1 Statistique du VHB la clinique d’urologie-néphrologie et transplantation rénale « Bouchrit Abd Alkader » de Constantine en Janvier 2014- Mai 2015

Tableau 06 : nombre de patients atteints du VHB à la clinique d’Urologie-Néphrologie et Transplantation Rénale « Bouchrit Abd Alkader » de Constantine en Janvier 2014- Mai 2015 :

Résultats : Nombre de personnes dépistés :	Positifs :		Négatifs :
302	27		275
	Hommes :	Femmes :	
	15	12	

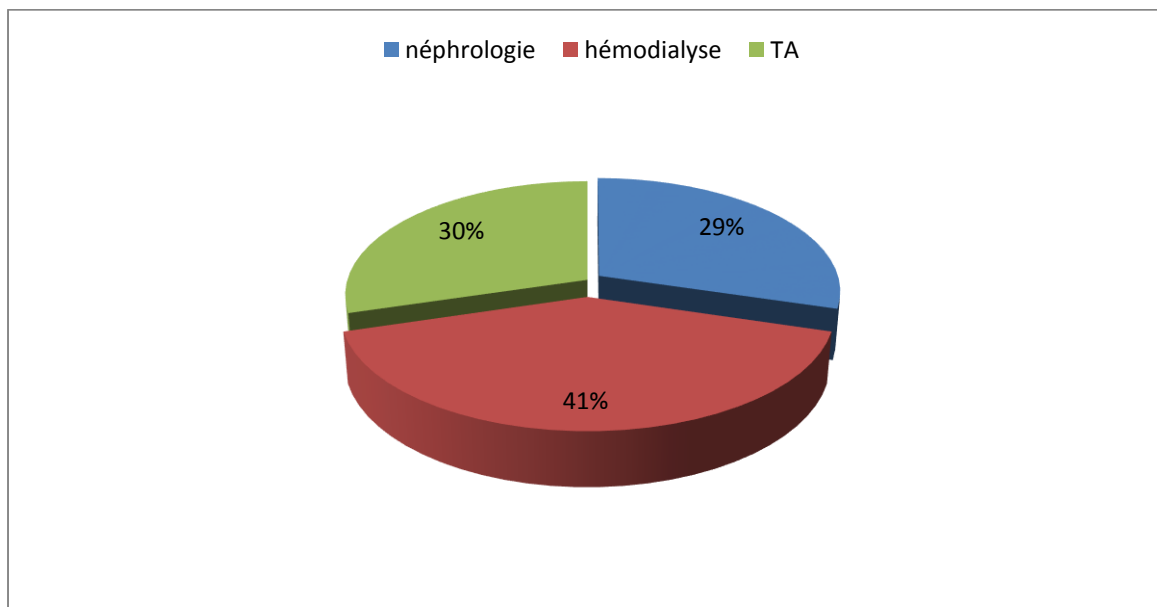


Figure 43 : Représentation graphique de nombre de personnes atteints du VHB par service.

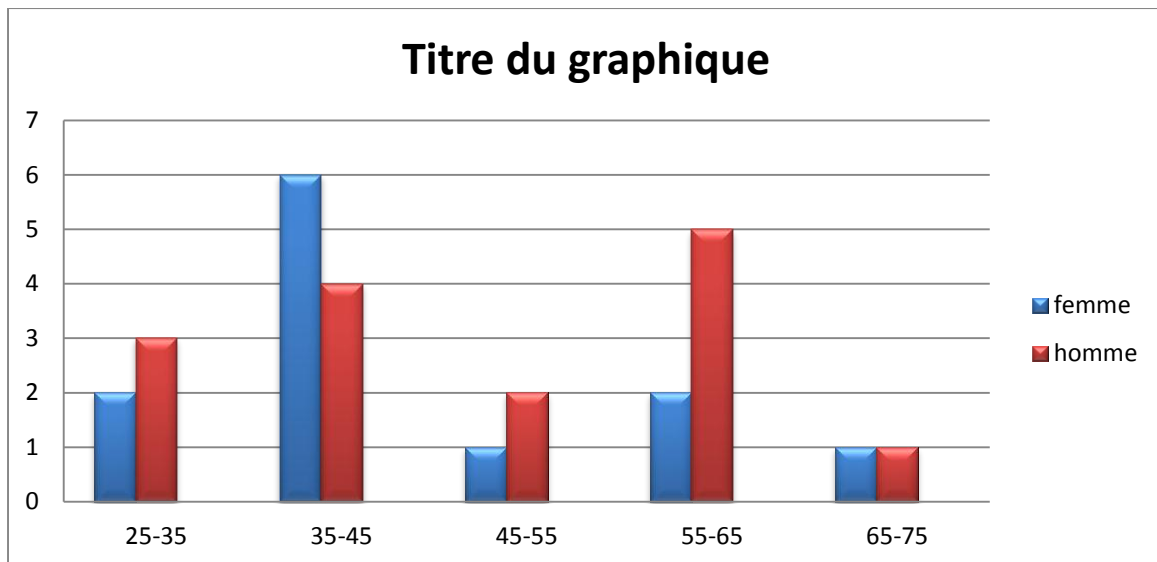


Figure 44 : représentation graphique de nombre de personnes atteints du VHB en fonction de leurs âges.

2.2. Statistique du VHC la clinique d'urologie-néphrologie et transplantation rénale « Bouchrit Abd Alkader » de Constantine en Janvier 2014- Mai 2015

Tableau 07: nombre de patients atteints du VHC à la clinique d'urologie-néphrologie et transplantation rénale « Bouchrit Abd Alkader » de Constantine en Janvier 2014- Mai 2015 :

Résultats : Nombre de personnes dépistés :	Positifs :		Négatifs :
302	71		231
	Hommes :	Femmes :	
	40	31	

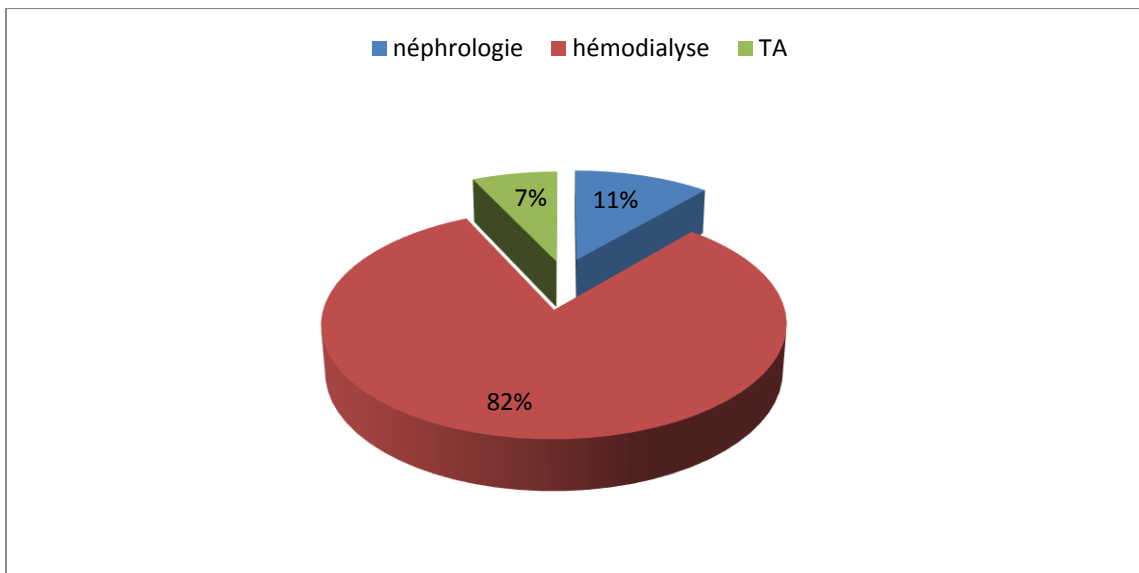


Figure 45 : Représentation graphique de nombre de personnes atteints du VHC par service.

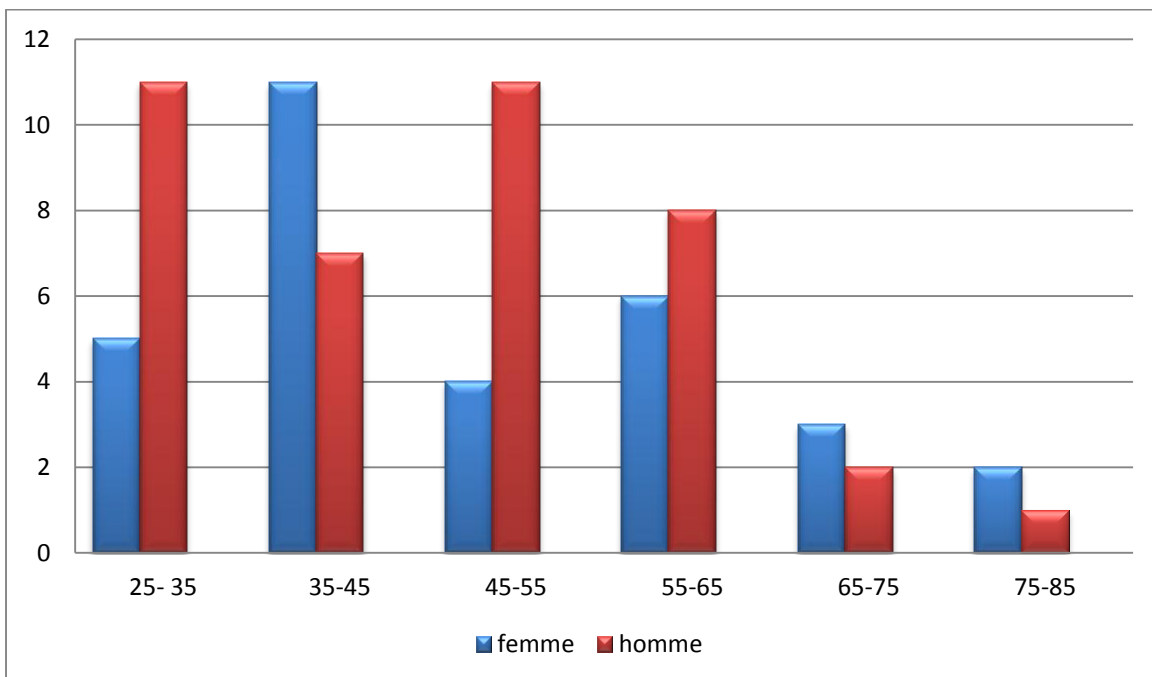


Figure 46 : représentation graphique de nombre de personnes atteints du VHC en fonction de leurs âges.

Discussion

Le patient dialysé présente en général une immunité défaillante qui l'expose aux complications infectieuses dans l'unité de dialyse. En effet les traitements répétés par des transfusions et des perfusions constituent des gestes invasifs pour le dialysé majorant ainsi le risque infectieux surtout viral dont les plus fréquemment rencontrés sont les virus de l'hépatite B et C responsables d'atteintes chroniques rarement aiguës.

L'introduction des méthodes immuno-enzymatique en pratique courante a permis de déterminer la prévalence de l'hépatite virale B et C et d'évaluer ses facteurs de risque

Les moyens de dépistage utilisés sont des tests immuno-enzymatiques type ELISA. Notre étude a porté sur la période de janvier 2014 à juin 2015. le nombre de personnes dépistées pour l'Ag HBs est (302), et pour l'Ac-anti VHC (302), on a constaté qu'il y a (27) personnes atteintes de l'hépatite B soit (8,94%) et (71) personnes atteintes de l'hépatite C (23,51%). Donc l'infection par le VHC est plus fréquente que le VHB chez cette catégorie de malades dans l'établissement de « BOUHRIT –ABD –ELKADER DAKSI » de Constantine.

La prévalence élevée de l'infection par le HVC chez les hémodialysés a été expliquée un certain nombre de facteurs prédisposants :

- Le sexe masculin ;
- L'infection par d'autres virus, en particulier le VIH et le VHB ;
- Les transfusions de dérivés sanguins et le nombre de culots globulaires transfusés ;
- La durée et l'ancienneté en hémodialyse

En effet, les transfusions sanguines répétées constituent un facteur de risque statistiquement démontré, d'où l'intérêt de recourir à l'utilisation de l'érythropoïèse humaine recombinante dans les traitements de l'anémie des insuffisants rénaux, afin de diminuer le nombre de transfusions sanguines.

Dans notre étude, la positivité des marqueurs sérologiques de l'hépatite B (Ac anti HBs et Ac anti HBc) est corrélée positivement à l'existence de l'anticorps anti HVC. Ceci s'explique par un mode de transmission identique pour, représentée essentiellement ici par la voie parentérale

Afin de réduire l'incidence de l'HBV et l'HCV, il est fondamental de :

- Respecter les mesures préventives de transmission des hépatites virales dans les centres de dialyse
- Eviter les transfusions sanguines répétées, par la prescription de l'érythropoïétine recombinante humaine
- Eviter les transfusions sanguines répétées, par la prescription de l'érythropoïétine recombinante humaine
- Encourager le traitement de l'insuffisance rénale chronique par la dialyse péritonéale (DPCA), et par la dialyse à domicile. La prévalence de l'infection par le virus de l'hépatite C et B étant plus faible quand la dialyse est effectuée par ces deux techniques.
- Prévenir la contamination des centre de dialyse par le dépistage systématique et répété des Ac anti HCV et celle de l'hépatite B, afin d'entreprendre un protocole de vaccination adéquat pour l'hépatite virale B et isoler les patients Ag HBs positif.
- Respecter et faire respecter les mesures d'asepsie rigoureuses dans les centres d'hémodialyse par le personnel médical, paramédical et le les malades.

Conclusion

Conclusion

Face aux progrès médicaux technique ainsi qu'aux études épidémiologique des affections nosocomiales et la transmissions infectieuse et virales liée à l'hémodialyse chronique qui suppose des manœuvre invasives répétées plusieurs fois par semaine, Au nombre croissant des patients hémodialysés et transplantation rénale dans la clinique **d'urologie –néphrologie et transplantation rénale « BOUCHRIT ABD – EKADER »** de CONSTANTINE, qui connait des progrès constants en matière d'équipements récents d'appareil de dialyse avec un personnel médical qualifié en la matière , peut réduire de manière significative la fréquence des affections .

Les appareils de dialyse requièrent dialyse qui permet d'avoir des données fiables et d'évaluer l'impact médical et financier des stratégies de prévention de surveillance capable de réduire considérablement la prévalence de ces infections liée a la dialyse .

Résumé

Résumé

Les infections virales sont fréquentes chez les patients en hémodialyse chronique notamment celles dues au virus de l'hépatite B et de l'hépatite C.

L'objectif de cette étude est de connaître la prévalence des antigènes HBs et des anticorps anti-VHC ainsi que les principaux facteurs de risque de contamination, chez les hémodialysés chronique traités.

Afin de préciser la prévalence de l'hépatite C et B et les facteurs favorisant cette infection chez les hémodialysés chroniques (HDC) dans la clinique **d'urologie-néphrologie et transplantation rénale « BOUCHRIT ABD –ELKADER »** de CONSTANTINE, une étude transversale a été menée entre janvier 2014 et mai 2015.

La recherche d'anticorps Ac HCV (virus de l'hépatite C) et l'antigène Ag-HBs (virus de l'hépatite B) a été effectuée par méthode immuno- enzymatique « ELLISA »chez 302 de HDC pour le dépistage du VHB et de 302 de HDC pour le dépistage du VHC.

La recherche d'Ac anti –HVC s'est révélée positive chez 71 HDC soit 23.51 % ; et de l'Ag HBs est énoncée positive chez 27 HDC soit 8.94 %.

Ces résultats indiquent que l'hépatite virale C est plus fréquente chez HDC que l'hépatite virale B au niveau de la clinique **d'urologie-néphrologie et transplantation rénale « BOUCHRIT ABD –EIKADER » de Constantine** .

Mots clés : Hépatite virale, VHB, VHC, Hémodialyse, Ag HBs (HVB), Anti-HVC (HVC)

Summary

Viral infections are common among patients in chronic hemodialysis particularly the ones from the virus of hepatitis B and hepatitis C

The goal of this study is to know the prevalence of the HBs antigens and the anti - VHC antibodies as well as the independent factors of risk contamination in the called hemodialysis column.

To specify the prevalence of hepatitis B and C and the factors supporting this infection at the chronic hemodialysis (HDC) in the clinic of nephrology urology- and kidney transplant “BOUCHRIT ABD ELKADER –” of CONSTANTINE cross-sectional, a study was executed between January 2014 and May 2015

The search for right antibody (HCV virus) hepatitis C antigen and the Ag HBs - virus (hepatitis B) were led by immuno-enzymatic method ELLISA 302 HDC of for the track of the VHB and 302 HDC of hunting for the VHC of the

The search for anti HVC – right appeared positive HDC 71 is 23.51%. Ag and HBs is said to be 27 positive HDC is 8.94%

These results indicate that the viral hepatitis C is more common than at HDC viral hepatitis B on the level of the clinic of nephrology urology- and kidney transplant “BOUCHRIT ABD EIKADER –” of Constantine

Keywords: hepat viral itis, HBV, HCV, hemodialysis, AgHBs (HVB), anti-HCV (HCV

ملخص

العدوى الفيروسيّة الشائعة عند مرضى غسيل الكلى المزمنة على وجه الخصوص التهاب الكبد B و التهاب الكبد C

الهدف من هذه الدراسة هو معرفة مدى انتشار و مكافحة الاجسام المضادة و عوامل الخطر الرئيسية للتلوث في مرضى غسيل الكلى المزمن .

لمزيد من الدقة في انتشار التهاب الكبد B و C وعوامل العدوى في غسيل الكلى المزمن في عيادة المسالك البولية امراض الكلى بوشريط عبد القادر قسنطينة اجريت الدراسة من جانفي 2014 الى غاية ماي 2015 .

تم اجراء البحث عن الاجسام المضادة HCV –anti Ac (التهاب الكبد الفيروسي C) و مستضاد التهاب الكبد HBs Ag من خلال طريقة الانزيمات المناعية ELISA من بين 302 لغسيل الكلى المزمن التهاب الكبد 302 لغسيل الكلى لالتهاب الكبد .

و كان العثور على الاجسام المضادة لمكافحة HVC ايجابية 71 مريض بغسيل الكلى و كانت ايجابية بنسبة 23.51% اما بالنسبة HBs Ag ايجابية 27 مريض بغسيل الكلى و كانت بنسبة 8.94%

هذه النتائج تشير الى ان التهاب الكبد الفيروسي C هو الاكثر شيوعا في غسيل الكلى المزمن و التهاب الكبد الفيروسي في جراحة المسالك البولية و امراض الكلى عيادة بوشريط عبد الحق قسنطينة .

الكلمات المفتاحية : التهابات الكبد الفيروسيّة , التهاب الكبد الفيروسي B , التهاب الكبد الفيروسي C, غسيل الكلى, مستضاد التهاب الكبد HBs Ag, الاجسام المضادة HCV –anti Ac.

Références bibliographiques

1. **Lukas Heidn .**, La santé du foie , Les Éditions Québec , septembre 2013.
2. **L. RADERMACHER.**, Guide pratique d'hémodialyse., 2004 . *CHU de LIEGE*.
3. <http://www.futurasciences.com/magazines/sante/infos/dico/d/biologie-foie>.
4. **Morris Sherman .**, Les maladies du foie au Canada , MARS 2013 , p.7.
5. Inserm–Actualités , Recherche sur les hépatites B et C en France, N°203, novembre 2006.
- 6.http://www.liver.ca/files/PDF/New_format_infosheets__french__2011/CLF_InfoSheet_CirrhoseFoie_F.pdf.
7. Organisation mondiale de la santé ., Thèmes de santé, Hépatite - Hépatite B, OMS.www.who.int.
8. **Handra-Luca A ; Tengher L ; Ziol M.**, Aspects Histopathologiques des Infections à Virus Hépatotropes. *Revue Francophone des Laboratoires* 2 007 ; 388 : 41-48.
9. **Esbois D ; Couturier E ; Graube A.**, Diversité génétique d'un génotype rare du virus de l'hépatite A. *Pathologie Biologie* 2011 ; 59 : 57–65.
10. **Chemin I; Zoulim F.**, Hepatitis B virus induced hepatocellular carcinoma. *Cancer Letters* 2009; 286: 52–59.
11. **Bartenschlager R; Sparacio S.**, Hepatitis C virus molecular clones and their replication capacity in vivo and in cell culture. *Virus Research* 2007; 127:195–207
12. **Deny P ; Nicolas J-C ; Poinot H ; Marechal V.**, virus de l'hépatite D : un modèle original de réplication virale. *Revue française des laboratoires* 1996 ; 283:78,84.
13. **Hannachi N ; Hidar S ; Harrabi I.**, Séroprévalence et facteurs de risque de l'hépatite virale E chez la femme enceinte dans le centre tunisien. *Pathologie Biologie* 2009 ; doi:10.1016/j.patbio.2009.06.004.
14. **Jean, M ; Christophe ; Stephane, B ; Frédérique, M ; Jaque, Z.** *Virologie humain et animal.* Belgique 2005. P 144, 146
15. sante-medecine.commentcamarche.net, aout 2014.
16. VULGARIS-MEDICAL, Insuffisance rénale aiguë, <http://www.vulgaris-medical.com/encyclopedie-insuffisance-renaleaigue.2548.html>, visité le 22 mars 2008.
17. <http://airg-france.fr/wp-content/uploads/2011/02/Reins-et-fonctions.pdf>.
18. sante-medecine.commentcamarche.net, juin 2014.

19. **AZZA NOUR EL HOUDA, BEKHALED IMANE, DAHMANE SAMIA.**, hépatite c et hémodialyse. 2011-2012.
20. http://www.socnephrologie.org/PDF/epro/reference/marhea/infos/ficheinfo_hemodialyse.pdf.
21. **Man N.K., Jungers P.**, Principes physico-chimiques de l'hémodialyse. Juillet 2007.
22. http://www.socnephrologie.org/PDF/enephro/registres/rapport_2008/rapport_2008.
23. **Ayzac L, Beruard M, Girard R.**, Dialin: Infection surveillance network for haemodialysis patients. First results. *Nephrol Ther* 2009, 5:41-51.
24. **Carriero D, Fabrizi F, Uriel AJ.**, Treatment of dialysis patients with chronic hepatitis C using pegylated interferon and low-dose ribavirin. *Int J Artif Organs* **2008**, 31:295-302.
25. **Eric Odenheimer ; Beat Mullhaupt ; Andreas Cerny.**, L'hépatite B: 50 questions et réponses , 2e édition 2012.
26. **Blumberg B S.**, Encyclopédie Microsoft Encarta , 2003, Product ID: 59578- OEM-1207047-69207. Version: 12.0.0.O602.
27. **Schaefer S.**, Hepatitis B virus taxonomy and hepatitis B virus genotypes. *World Journal of Gastroenterology* 2007 ; 13: 14-21.
28. **Ayari R ; Gorgi Y ; Aouadi H ; Ayed-Jendoubi S ; Ayed K.**, La PCR dans la détection de l'ADN du virus de l'hépatite B : choix des amorces. *Immuno-analyse et biologie spécialisée* 2006 ; 21 : 308–313.
29. **A. Mammette.**, Virologie médicale, Presses universitaires de Lyon. P.D. 2002.
30. **Bruss V.**, Hepatitis B virus morphogenesis. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 65,73.
31. **Hilmer J K , Zlotnick A , B othner B .**, Conformational Equilibria and Rates of Localized Motion within Hepatitis B Virus Capsids. *J.Mol.Biol.* 2008 ;375 : 581-594.
32. **Ben Slama N, Si Ahmed SN, Zoulim F.**, Quantification de l'antigène HBs : signification virologique. *Gastroentérologie Clinique et Biologique.*, 2010 ; 34 : 112-118.
33. **Zoulim F , Lucifora J , Arzberger S .**, Hépatite B virus X protein is required for productive infection of human hepatocytes. *Journal of Hepatology.* 2010 ; 52: 43-54.
34. **Wagner A ; Denis F ; Ranger-Rogez.**, Génotype du virus de l'hépatite B. *Immuno-analyse et Biologie spécialisée* 2004 ; 19 : 330-342.
35. **F, Lugassy C; Degott C; Debure A; Carnot F; Thiers V.**, Hepatitis B virus and hepatitis B-related viral infection in renal transplant recipients. A prospective study of 90 patients. *Gastroenterology* 1988; 94: 151-6.
36. **Pol S ; Thiers V ; Nalpas B ; Degos F ; Gazengel C ; Carnot F.**, Monoclonal anti-HBs antibodies radioimmunoassay and serum HBV-DNA hybridization as diagnostic tools of HBV

- infection: Relative prevalence among HBs Ag negative alcoholic patients, patients with chronic hepatitis or hepatocellular carcinomas and blood donors. *Eur J Clin Invest* 1987 ; 17: 515-21.
37. Bonnes pratiques d'hygiène en hémodialyse. recommandations de la sfhh, HYGIÈNES - 2005 – Article , Volume XIII - N° 2
38. **Lau JYN ; Bain VG ; Davies SE ; O' Grady JG ; Alberti A ; Alexander GJM.**, High level expression of hepatitis B viral antigens in fibrosing cholestatic hepatitis. *Gastroenterology* 1992 ; 102 : 956-62.
39. **Ajana F.**, L'hépatite virale B, encore et toujours d'actualité. *Archives de pédiatrie.* 2006 ; 13 :1269–1274.
40. **Scott BOWDEN.**, Serological and molecular diagnosis , *Seminars in Liver Disease*, vol. 26, no 2, 2006, p. 97-103.
- Scott KRUGMAN.**, Viral hepatitis, type B. Studies on natural history and prevention re-examined , *The New England Journal of Medicine*, vol. 300, no 3, 1979,p. 101-106.
41. **Takayuki MARUYAMA.**, Distinguishing between acute and symptomatic chronic hepatitis B virus infection , *Gastroenterology*, vol. 106, no 4, 1994, p. 1006- 1015
42. **Harrison ALTER.**, Type B hepatitis: The infectivity of blood positive core antigen and DNA polymerase after accidental needlestick exposure , *The New England Journal of Medicine*, vol. 295, no 17, 1976, p. 909-913.
43. **Zoulim F.**, New virologic tests and their application in management of chronic hepatitis B. *Presse Med*, 2006; **35**(2 Pt 2): 317-26.
44. **Halfon P ; Pol S ; Bourlière M ; Cacoub P.**, Les génotypes du virus de l'hépatite B Implications cliniques, épidémiologiques et thérapeutiques. *Gastroentérologie Clinique et Biologique* 2002 ; 26 : 1005-1012.
45. **Halfon P ; Pol S ; Bourlière M ; Courcambeck ; Cacoub P.**, Nucléoside analogues resistance in treatment of chronic hepatitis B virus infection. *La revue de médecine interne* 2003, 24:786-793.
46. **Wagner A ; Denis F ; Ranger-Rogez.**, Génotype du virus de l'hépatite B. *Immuno-analyse et Biologie spécialisée* 2004 ; 19 : 330-342.
47. **Grazia Anna NIRO.**, Treatment of hepatitis D , *Journal of Viral Hepatitis*, vol. 12, no 1, 2005, p. 2-9.
48. **Chen, K ; Y. Wei ; A. Alter ; G.C. Sharp et H. Braley-Mullen.**, Chemokine expression during development of fibrosis versus resolution in a murine model of granulomatous experimental autoimmune thyroiditis. **2005** , *J Leukoc Biol* **78**: 716,24.

49. <http://www.laskerfoundation.org/awards/libry/2000c-clinical-shtml>.
50. **Choo Q ; Kuo G ; Weiner A ; Overby L ; Bradley D ; Houghton M**, Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome , Science, vol. 244,n° 4902, 1989, p. 359.
51. **Houghton M ; Q-L Choo et G. Kuo, NANBV.**, Diagnostics and Vaccines ; le 18 novembre 1988.
52. **Paul Elias.**, Hepatitis Drug-Maker Complaints Reviewed., The Associated Press, 27 février 2004.
53. <http://www.laskerfoundation.org/awards/libry/2000c-clinical-shtml>.
54. **ZEBA Tokéda Abdoul Moctar .**, Co-infection des virus des hépatites B et C au Burkina ., 2012 , p.26-51,52-56.
55. **Florence Nicot.**, Variabilité génétique du virus de l'hépatite c et persistance virale, Thèse en vue de l'obtention du doctorat de l'université de Toulouse ., **13 juillet 2010**, P7-8-21-22.
56. **Pawlotsky J.M .**, Le virus de l'hépatite C , 2002.
57. **Scarselli, E ; H. Ansuini.**, The human scavenger receptor class B type I is a novel candidate receptor for the hepatitis C virus ., 2002 , Embo J **21**(19): 5017 25.
58. **Pileri, P ; Y. Uematsu.**, Binding of hepatitis C virus to CD81., 1998 , Science 282(5390): 938-41.
59. **Evans, M. J ; T. von Hahn.**, Claudin-1 is a hepatitis C virus co receptor required for a late step in entry ., 2007 , Nature 446(7137): 801-5.
60. **Miyanari, Y ; K. Atsuzawa.**, 2007 , The lipid droplet is an important organelle for hepatitis C virus production , Nat Cell Biol **9**(9): 1089-97.
61. **Huang, Z ; M. G. Murray.**, Recent development of therapeutics for chronic HCV infection , 2006 , Antiviral Res **71**(2-3): 351-62.
62. **Timpe, J. M ; Z. Stamataki.**, Hepatitis C virus cell-cell transmission in hepatoma cells in the presence of neutralizing antibodies , 2008 , Hepatology **47**(1): 17-24.
63. **Flint, M ; C. Maidens.**, Characterization of hepatitis C virus E2 glycoprotein interaction with a putative cellular receptor, CD81 ., 1999 , J Virol **73**(8): 6235.
64. **Owsianka, A. M ; J. M. Timms.**, Identification of conserved residues in the E2 envelope glycoprotein of the hepatitis C virus that are critical for CD81 binding., 2006 , J Virol **80**(17): 8695-704.
65. **Lavillette, D ; E. I. Pecheur.**, Characterization of fusion determinants points to the involvement of three discrete regions of both E1 and E2 glycoproteins in the membrane fusion process of hepatitis C virus , 2007 , J Virol **81**(16): 8752-65.

66. **Boonstra, A ; L. J. van der Laan.**, Experimental models for hepatitis C viral infection , 2009 , *Hepatology* **50**(5): 1646-55.
67. **S. POL ; H. FONTAINE ; A. VALLET-PICHARD .**, Traitement des hépatites virales dans les situations d'insuffisance rénale ; *Actualités néphrologiques* , 2002_09.
68. . **Zoulim F.**, Hépatites Virales B Et C Editeur : John Libbey Eurotext. Collection : Pathologie Science Formation Parution : 30/11/2006 ; Nombre de pages : 246
69. **ESPINOSA M ; MARTIN-MALO A ; ALVAREZ DE LARA MA ; GONZALEZ R ; RODRIGUEZ M.** Natural history of acute HCV infection in hemodialysis patients. *Clin Nephrol* 2002, **58** : 143-150.
70. **ESPINOSA M ; MARTIN-MALO A ; ALVAREZ DE LARA MA ; SORIANO S ; ALJAMA P.** High ALT levels predict viremia in anti-HCV-positive HD patients if a modified normal range of ALT is applied. *Clin Nephrol* 2000, **54** : 151-156.
71. **OKUDA K ; HAYASHI H ; YOKOZEKI K ; KOBAYASHI S ; KASHIMA T.**, Acute hepatitis C among renal failure patients on chronic haemodialysis. *J Gastroenterol Hepatol* 1998, **13** : 62-67.
72. **RAMPINO T ; ARBUSTINI E ; GREGORINI M ; GUALLINI P ; LIBETTA C.**, Hemodialysis prevents liver disease caused by hepatitis C virus : role of hepatocyte growth factor. *Kidney Int* 1999, **56** : 2286-2291.
73. **SALAMA G ; ROSTAING L ; SANDRES K ; IZOPET J.** Hepatitis C virus infection in French hemodialysis units : a multicenter study. *J Med Virol* 2000, **61** : 44-51.
74. **NAKAYAMA E ; AKIBA T ; MARUMO F ; SATO C.** Prognosis of anti-hepatitis C virus antibody-positive patients on regular hemodialysis therapy. *J Am Soc Nephrol* 2000, **11** : 1896-1902.
75. **PEREIRA BJ ; NATOV SN ; BOUTHOT BA ; MURTHY BV ; RUTHAZER R.** Effects of hepatitis C infection and renal transplantation on survival in end-stage renal disease. The New England Organ Bank Hepatitis C Study Group. *Kidney Int* 1998, **53** : 1374-1381.
76. **POL S ; VALLET-PICHARD A ; FONTAINE H, LEBRAY P.** HCV infection and hemodialysis. *Semin Nephrol* 2002, **22** : 331-339.
77. **IZOPET J ; ROSTAING L ; SANDRES K ; CISTERNE JM ; PASQUIER C.**, Longitudinal analysis of hepatitis C virus replication and liver fibrosis progression in renal transplant recipients. *J Infect Dis* 2000, **181** : 852-858.

78. **KNOLL GA ; TANKERSLEY MR ; LEE JY ; JULIAN BA ; CURTIS JJ.** The impact of renal transplantation on survival in hepatitis C-positive end stage renal disease patients. *Am J Kidney Dis* 1997, **29** : 608-614.
79. <http://consensus.nih.gov/2002/2002HepatitisC2002116PDF.pdf>, accessed **7 September 2012.**
80. **Tanaka E.**, Evaluation of a new enzyme immunoassay for hepatitis C virus (HCV) core antigen with clinical sensitivity approximating that of genomic amplification of HCV RNA. *Hepatology* (Baltimore, Md.), 2000, 32:388–393.
81. **Lerat.**, Occult hepatitis C virus infection in patients in whom the etiology of persistently abnormal results of liver-function tests is unknown. *Journal of Infectious Diseases*, 2004, 189(1):3–6; 7–14.
82. **Fabrizi F.**, Decreased serum aminotransferase activity in patients with chronic renal failure: Impact on the detection of viral hepatitis. *American Journal of Kidney Diseases*, 2001, 38(5):1009–1015.
83. **Perico N.**, Infection and Chronic Renal Diseases. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology; CJASN*, 2009, 4:207–220.
84. **Cavalcanti Gouveia E.**, Identificacao de ponto de corte no nivel serico da alanina aminotransferase para rastreamento da hepatite C em pacientes com insuficiencia renal cronica em hemodialise ,Identification of the cutoff value for serum alanine aminotransferase in hepatitis C screening of patients with chronic renal failure on hemodialysis. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 2004, 37:18–21.
85. **Hanuka N.**, Hepatitis C virus infection in renal failure patients in the absence of anti-hepatitis C virus antibodies. *Journal of Viral Hepatitis*, 2002, 9(2):141–145.
86. **Fabrizi F.**, Novel assay using total hepatitis C Virus (HCV) core antigen quantification for diagnosis of HCV infection in dialysis patients. *Journal of Clinical Microbiology*, 2005, 43(1):414–420.
87. **Medhi S.**, Diagnostic utility of hepatitis C virus core antigen in hemodialysis patients. *Clinical Biochemistry*, 2008, 41:447–452.
88. **Barril I.**, Occult hepatitis C virus infection among hemodialysis patients. *Journal of the American Society of Nephrology*, 2008, 19:2288–2292.
89. **KDIGO** clinical practice guidelines for the prevention, diagnosis, evaluation, and treatment of hepatitis C in chronic kidney disease. *Kidney International. Supplement*, 2008, (109):S1–S99.
90. Recommendations for preventing transmission of infections among chronic hemodialysis patients. *MMWR Recommendations and Reports*, 2001, 50(RR–5):1,43.

91. **Giuberti T; Ferrarri C ; Marchelli S.**, Long-term follow-up of anti-hepatitis C virus antibodies in patients with acute nonA nonB hepatitis and different outcome of liver disease. *Liver* 1992 ; 12 : 94-9.
92. **Degos F.**, Vaccination contre l'hépatite B. *Presse Med* 2006; 35: 347-352.
93. **Michel ML, Tiollais P.**, Hepatitis B vaccines: Protective efficacy and therapeutic potential. *Pathologie Biologie* 2010 ; 58 : 288–295.
94. **Mostefaoui Mohamed Amine .**, Les hépatites virales B et C ., 2013-2014.
95. **Dény P, Zoulim F.**, Hepatitis B virus: From diagnosis to treatment. *Pathologie Biologie.* 2010 ; 58 : 245–253.
96. **DJELTI FATIHA.**, Les hépatites virales B et C.2011-2012.
97. **Dr Felix Agbalika .**, Infection par les virus des hépatites B, (Delta), C., 2014 , Université Paris 7 .
98. **Segondy M.**, Infections virales sexuellement transmissible, 2003. Guides Médi/Bio, Edition Elsevier Masson, 206 p.

Annexe

A

Albumines : L'albumine est la protéine la plus représentée dans le sang. Elle est fabriquée par le foie, mais est également apportée par certains aliments, notamment le lait et l'œuf. L'albumine joue un ensemble de rôles qui la rendent indispensable à l'organisme. Elle est en effet nécessaire, entre autres, à la bonne répartition des liquides entre les différentes structures que sont les vaisseaux, les tissus et l'espace qui les sépare, appelé milieu interstitiel. Par ailleurs, elle véhicule un certain nombre d'hormones, des acides gras, la bilirubine. Dans le sang, le taux d'albumine aussi appelé albuminémie, est abaissé en cas de dénutrition ou de syndrome néphrotique, maladie rénale qui est responsable d'une fuite des protéines dans les urines.

Anticorps : Un anticorps est un complexe protéique. Si chaque organisme doté d'un système immunitaire code pour des milliards d'anticorps différents, ils possèdent tous les mêmes caractéristiques globales. Ce sont des glycoprotéines de la famille des immunoglobulines, formées de deux chaînes lourdes identiques (H pour heavy) et de deux chaînes légères identiques (L pour light). Ils sont souvent représentés en Y, où les deux chaînes lourdes sont reliées entre elles par un pont disulfure au niveau de la tige du Y. Les deux chaînes légères sont associées aux chaînes lourdes au niveau des bras du Y, également par des ponts disulfures

Antigène : On appelle antigène toute substance étrangère à l'organisme capable de déclencher une réponse immunitaire visant à l'éliminer. Il s'agit le plus souvent de protéines ou de peptides (fragments de protéines) qui sont reconnus de manière spécifique par des anticorps et également par certains globules blancs, les lymphocytes T8. Les anticorps sont produits par les lymphocytes B et leur production est stimulée par les lymphocytes T4 qui jouent un rôle de chef d'orchestre du système immunitaire

B

Bilirubine : La bilirubine provient de la dégradation de l'hémoglobine des globules rouges sénescents au niveau de la rate. C'est un pigment jaune à l'origine de la coloration des urines. Elle circule dans le sang lié à une protéine, l'albumine, puis est captée au niveau du foie et est excrétée dans la bile. L'ictère, ou jaunisse, donne à la peau une couleur jaunâtre, et est causé par une accumulation de bilirubine dans le sang. Un taux trop élevé ou une augmentation brutale de bilirubine dans le sang peut

laisser supposer une destruction anormale des globules rouges, une hépatite ou une cirrhose. La bilirubine existe principalement sous 2 formes : la bilirubine dite libre qui est toxique et est transformée par le foie en bilirubine dite conjuguée qui sera ensuite éliminée dans les matières fécales et urinaires

C

Cirrhose : La cirrhose est une maladie chronique au cours de laquelle le foie se couvre de tissu fibreux, ce qui provoque la décomposition progressive du tissu hépatique qui se remplit de tissu gras. La cirrhose est le plus souvent la conséquence d'un alcoolisme de longue date mais elle peut aussi être provoquée par la malnutrition, l'hépatite ou d'autres infections.

F

Fibrose : La fibrose désigne la transformation de certains tissus en un tissu composé de fibres, proche du tissu conjonctif. Elle intervient souvent à la suite d'une lésion tissulaire ou d'une inflammation d'un tissu où ceux-ci ne se régénèrent pas correctement : les tissus initialement sains sont alors remplacés par un tissu fibreux. Lors d'une lésion tissulaire, l'évolution normale se fait vers la cicatrisation, c'est-à-dire le remplacement des cellules mortes par des cellules identiques dont les fonctions sont conservées.

En cas de déséquilibre du système entrant dans ce phénomène de réparation, il y a une production excessive de collagène ce qui conduit vers la fibrose. C'est à peu près le même schéma en cas d'inflammation chronique. La fibrose peut toucher de nombreux organes tels que le pancréas, le rein, le foie ou le poumon.

G

Le génome : est l'ensemble du matériel génétique d'un organisme. Il contient à la fois les séquences codantes, c'est-à-dire celles qui codent pour des protéines, et les séquences non codantes. Chez la majorité des organismes, le génome correspond à l'ADN présent dans les cellules. Cependant, chez certains virus appelés rétrovirus (par exemple le VIH), le matériel génétique est de l'ARN. L'ADN est souvent comparé à un livre dont le langage est constitué de quatre bases azotées, également appelées nucléotides : l'adénine, la cytosine, la guanine et la thymine (A, C, G, T). La manière dont ces bases sont organisées constitue le code génétique. Ce dernier peut

être lu par la machinerie cellulaire, qui peut le transcrire en ARN puis en protéines. Le séquençage de l'ADN permet de connaître l'enchaînement des nucléotides et de cartographier le génome. La taille du génome est très variable en fonction des organismes. Elle varie de quelques milliers à plusieurs millions de paires de bases. Le Projet génome humain, lancé en 1990, a permis le séquençage de l'ADN humain, composé d'environ 3,4 milliards de nucléotides. On dénombre à ce jour près de 25.000 gènes chez l'Homme.

Génotype : Le génotype est l'information portée par le génome d'un organisme, contenu dans chaque cellule sous forme d'acide désoxyribonucléique (ADN). Porté par les chromosomes, il est localisé à l'intérieur du noyau chez les eucaryotes et dans le cytoplasme chez les procaryote .Dans la molécule d'ADN, c'est la séquence des nucléotides qui constitue l'information génétique

H

Hémodialyse : L'hémodialyse est une technique de suppléance rénale utilisée chez les personnes dont les reins ne fonctionnent pas bien ou ont cessé de fonctionner.

Hépatite : est une inflammation du foie entraînant une destruction plus ou moins importante des hépatocytes, les principales cellules du foie

Hépatite chronique : Il faut distinguer le portage chronique du virus C quand la recherche du virus dans le sang par PCR reste positive plus de 6 mois après la contamination de l'inflammation du foie ou hépatite chronique

Hépatocyte : cellule du foie, qui sécrète des substances dans le sang et dans le tube digestif.

I

Injection : Introduction d'un médicament liquide dans le corps à l'aide d'une seringue. Les injections sont le plus fréquemment intraveineuses, intramusculaires ou sous-cutanées.

L'injection sous-cutanées :

Qui est situé ou effectué sous la peau. On parle par exemple d'une injection sous-cutanée. que le patient peut apprendre à faire lui-même

L'injection intramusculaire :

L'injection intramusculaire consiste à introduire une substance médicamenteuse dans le tissu musculaire

L'injection intraveineuse : Comme son nom l'indique, l'injection intraveineuse correspond à l'administration d'une substance via le système veineux d'un individu. Pratiqué à l'aide d'une aiguille ou d'une seringue, ce type d'injection permet une pénétration rapide d'une substance médicamenteuse telle que les analgésiques

Inflammation : L'inflammation est un ensemble de réactions générées par l'organisme en réponse à une agression subie. Celle-ci peut être d'origine extérieure comme une blessure, une infection, un traumatisme ou provenir de l'intérieur de l'organisme lui-même comme c'est le cas dans des pathologies auto-immunes.

Interféron : protéine de défense produit par l'organisme en réponse à une infection virale .les interféron utilisés pour le traitement des hépatites chronique sont obtenus par recombinaison génétique à partir de gènes d'interféron humains, les seuls qui soient efficaces chez l'homme.

L

Lymphocyte : Les lymphocytes sont une variété de globules blancs du sang.

M

Métabolisme : Le métabolisme définit l'ensemble des réactions couplées se produisant dans les cellules de l'organisme. Il est constitué de deux mécanismes opposés : le catabolisme : il permet d'extraire l'énergie des nutriments, par dégradation des molécules énergétiques (glucides, lipides...); l'anabolisme : il permet de synthétiser les constituants nécessaires à la structure et au bon fonctionnement des cellules.

N

Nécrose : Altération d'un tissu consécutive à la mort de ses cellules

Nodule : Un nodule est une grosseur anormale de forme généralement arrondie, qui se développe à la surface d'un tissu ou dans un organe.

P

Parentéral : Qui n'emprunte pas la voie digestive, par opposition à entérale. Qualifie l'administration d'un médicament (toutes les voies sauf par la bouche et directement dans l'estomac ou les intestins, par sonde).

PCR : Réaction de polymérisation en chaîne. C'est une technique d'amplification enzymatique (Taq polymérase) qui permet à partir d'un fragment d'ADN, d'obtenir un grand nombre (plusieurs millions) de copies identiques de ce même fragment. Cette réaction est réalisée in vitro. Elle est très précieuse pour les études d'ADN fossile car on ne dispose que de très peu de matériel génétique.

R

Rejet : Phénomène d'incompatibilité immunitaire par lequel l'organisme refuse un greffon

Réplication : Mécanisme de production de nouvelles molécules nucléiques d'ADN ou d'ARN dans le cas de certains virus. Au niveau cellulaire, la copie de l'ADN résulte en la formation de deux molécules-filles identiques entre-elles et à la molécule-mère. Ce phénomène a lieu au niveau des chromosomes, avant la division cellulaire (réplication chromosomique).

S

Séroconversion : Apparition d'un anticorps donné jusqu'alors indétectable

Syndrome : Ensemble de symptômes observable dans plusieurs maladies différentes

T

Transmission parentérale : Est une voie d'administration de médicament au moyen d'une injection. Ce mode d'administration nécessite une aiguille hypodermique ou un cathéter mis en place par effraction plus ou moins profonde du revêtement externe du corps, c'est-à-dire la peau le plus souvent. L'action des médicaments pris par voie parentérale est générale (systémique)

Transmission périnatale : Est la maladie de la mère à l'enfant au cours de l'accouchement

V

Virus : Particule microscopique infectieuse possédant un seul type d'acide nucléique (ADN ou ARN) qui ne peut se répliquer qu'en pénétrant dans une cellule et en utilisant sa machinerie cellulaire. Les virus sont en général des germes pathogènes. Vaste famille de microorganismes responsables d'infections ; une caractéristique des virus est qu'ils ne peuvent pas se multiplier à l'extérieur des cellules de l'organisme qu'ils ont infectées.

Nom et Prénom : REKHOUM AMINA SANA MERIEM	Date de soutenance : 18/06/2015
Thème : Profil sérologique en Ag HBs (HVB) et anti-HVC (HVC) des malades de l'hémodialyse	
Nature du diplôme : Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master	
<p>Résumé :</p> <p>Les infections virales sont fréquentes chez les patients en hémodialyse chronique notamment celles dues au virus de l'hépatite B et de l'hépatite C.</p> <p>L'objectif de cette étude est de connaître la prévalence des antigènes HBs et des anticorps anti-VHC ainsi que les principaux facteurs de risque de contamination, chez les hémodialysés chronique traités. Afin de préciser la prévalence de l'hépatite C et B et les facteurs favorisant cette infection chez les hémodialysés chroniques (HDC) dans la clinique d'urologie-néphrologie et transplantation rénale « BOUCHRIT ABD –ELKADER » de CONSTANTINE, une étude transversale a été menée entre janvier 2014 et mai 2015.</p> <p>La recherche d'anticorps Ac HCV (virus de l'hépatite C) et l'antigène Ag-HBs (virus de l'hépatite B) a été effectuée par méthode immuno- enzymatique « ELLISA »chez 302 de HDC pour le dépistage du VHB et de 302 de HDC pour le dépistage du VHC.</p> <p>La recherche d'Ac anti –HVC s'est révélée positive chez 71 HDC soit 23.51 % ; et de l'Ag HBs est énoncée positive chez 27 HDC soit 8.94 %.</p> <p>Ces résultats indiquent que l'hépatite virale C est plus fréquente chez HDC que l'hépatite virale B au niveau de la clinique d'urologie-néphrologie et transplantation rénale « BOUCHRIT ABD –EIKADER » de Constantine.</p>	
Mot clé : Hépatite virale, VHB, VHC, hémodialyse, Ag HBs, anti-HVC	
Laboratoire de recherche : laboratoire de clinique D'URO-Néphrologie DAKSI .BP 234 Constantine	
Président du jury : Mr. ZITOUNI. A	(Maitre assistant A- UFM Constantine).
Examineurs : Mr. GRAMA. M	(Maitre assistant A-UFM Constantine).
Rapporteur : Mr. YAOU. A	(Maitre assistant A- UFM Constantine).
Dr. ALLAG. H	
Année universitaire 2014-2015	