

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث 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 : Analyse protéomique et santé

Intitulé

*Utilisation decertains marqueurs biologiques dans le diagnostic
sérologique au centre de transfusion sanguine*

Présenté et soutenu par :

Le : 02/07/2015

REMIL I Wissem et MEHAZEM Maissa

Jury d'évaluation :

Président du jury : MERAHI Z (Professeur - UFM Constantine).

Rapporteur : HAFI A (MCA- UFM Constantine).

Examineurs : GRAMA A (MAA- UFM Constantine).

*Année universitaire
2014 – 2015*

Dédicaces

Je dédie ce mémoire A mes parents

Ma Mère LEILA et mon père MOUSSA pour leur amour inestimable, leur confiance, leur soutien, leurs sacrifices et toutes les valeurs qu'ils ont su m'inculquer.

A ma grand-mère HOURIA pour sa douceur et sa gentillesse.

A mes sœurs : CHAIMA, MERIEM

A mes frères : MOUHAMED, BOUBAKER, ISLAM

A les filles : MIRAL et DJANNA

A toute ma famille de REMILI et ASSOULI

A tous mes amies et mes collègues

Dédicaces

Je dédie ce mémoire A mes parents

MA Mère MOUNIRA et mon père HACEN pour leur amour inestimable,
leur confiance, leur soutien, leurs sacrifices et toutes les valeurs qu'ils ont
su m'inculquer.

A ma grand-mère Houria pour sa douceur et sa gentillesse.

A mes sœurs : RANIA, MAROUA, ACHOUK

A toute ma famille et surtout :

Tonton OMAR

Tontonzaki

Ma cousine YOUSRA

Tous mes amies et surtout :

IMEN, NABILA et MERIEM

A mes collègues

Remerciements

Nous remercions avant tous Dieu qui nous a donné le courage, la force et la patience pour achever ce modeste travail.

*Nous remercions notre encadreur Monsieur **HAFI AMAR**, pour nous avoir guidés pendant la préparation de ce mémoire, pour sa patience et ses précieux conseils.*

Nous remercions les techniciens de laboratoire de transfusion sanguine à la maternité de sidi- mabrouk, pour leur accueil.

*Nous remercions également le docteur **HAFI LOUIZA**, pour ses conseils et sa patience, et merci aussi de répondre à nos questions.*

*Nous remercions sincèrement les membres du jury : Madame **MERAIHI ZAHIA** et Monsieur **GRAMA AMAR**, qui me font le grand honneur d'évaluer ce travail.*

Nous remercions tous ceux qui nous ont aidés, dans ce travail.

Merci à tous

LISTE DES ABREVIATIONS

ADNccc	covalentlyclosedcircular
ADNc	ADN complémentaire
ARN	Acide Ribonucléique
ARNm	ARN messenger
Ag-HBc	Antigène de la capsid du virus de l'hépatite B
Ag- HBe	Antigène du virus de l'hépatite B
Ag-HBs	Antigène de surface du virus de l'hépatite B
Agc	Antigène de capsid
Anticorps anti-VHC	Anticorps de surface du virus de l'hépatite C
CTS	Centre de Transfusion Sanguine
CCR-5	Chemokine CC motif Receptor 5 exprimé par les macrophages
CXCR-4	Chemokine CXC motif Receptor 4 exprimé par lymphocyte T.
CD4	glycoprotéine exprimée à la surface des lymphocytes T.
CPD	Citrate Phosphate Dextrose
CPDA	Citrate Phosphate Dextrose Adénine
FTA	Fluorescent Treponemal Antibody Absorption Test Gp 120, 41 Glycoprotéines
Gag	Glycosaminoglycane
GR	Globule Rouge
HRP	peroxydase de raifort (<i>horseradishperoxidase</i>)
IRES	Internal Ribosome EntrySite
NS2	protéine hydrophobe attachée à la membrane cellulaire
NS3	protéase virale
NS4A	protéine trans-membranaire cofacteur de NS3
NS4B	Protéine transmembranaire responsable du réseau membranaire

NS5A	phosphoprotéine virale
NS5B	polymérase virale
ORF	Open Reading Frame
PVL	Particules virales like
PSL	Produits sanguins labiles
PFC	Plasma frais congelé
QBD	Qualification biologique du don
RE	Réticulum endoplasmique
RPR	Rapid plasma reagin test
TPHA	Treponema pallidum HaemagglutinationAssay
TPPA	Treponema Pallidum Particle Agglutination
TMB	Tétraméthyl benzidine dissous dans de l'acide citrique
TR	Transcriptase Reverse
VDRL	VenerealDiseaseResearchLaboratory
VHB	virus de l'hépatite B
VHC	virus de l'hépatite C
VIH	virusde l'immunodéficience

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : morphologie du virus de l'hépatite B	7
Figure 2 : structure de particules de virus de l'hépatite B	8
Figure 3 : organisation du génome du VHB	8
Figure 4 : le cycle de réplication virale de l'hépatite B.....	11
Figure 5 : morphologie du virus de l'hépatite C	13
Figure 6 : structure de virus de l'hépatite C.....	13
Figure 7 : Représentation schématique du génome de l'VHC.....	14
Figure 8 : cycle de réplication virale de l'hépatite C	18
Figure 9 : la structure du virus d'immunodéficience humain	21
Figure 10 : Les étapes de pénétration de VIH à la cellule	23
Figure 11 : Cycle de réplication du VIH	25
Figure 12 : Morphologie du <i>Treponema pallidum</i> agent de la syphilis.....	27
Figure 13 : méthode d'ELISA indirect	32
Figure 14 : mécanisme réactionnelle d'hémagglutination	33
Figure 15 : prélèvement du sang total	52
Figure 16 : Techniques utilisées pour la détermination des groupes sanguins	56
Figure 17 : Le système ABO.....	57
Figure 18 : Séparations des globules rouges	58
Figure 19 : centrifugation du plasma pour la production des plaquettes	58
Figure 20 : plasma frais congelé.....	59
Figure 21 : les règles du don du plasma.....	61

Table des matières

CHAPITRE 1 INTRODUCTION

1. INTRODUCTION	0
	1

CHAPITRE 2 LES MARQUEURS BIOLOGIQUES

1. MARQUEURS BIOLOGIQUES	0
	5
1.1. LES INFECTIONS.....	0
	5
1.1.1. LES HEPATITES	0
	5
1.1.1.1. VIRUS DE L'HEPATITE B.....	0
	6
1.1.1.2. LE VIRUS DE L'HEPATITE C.....	1
	2
1.1.1.3. LE VIRUS DE L'IMMUNODEFICIENCE	1
	9
1.1.1.4. SYPHILIS.....	2
	6

CHAPITRE 3 DIAGNOSTIC

1. DIAGNOSTIC	3
	0
1.1. LE MARQUEUR DE L'HBV.....	3
	0
1.2. LE MARQUEUR DE L'HCV.....	3

	0
1.3. LE MARQUEUR DE L'HIV.....	3
	1
1.4. MECANISME REACTIONNELLE.....	3
	1
1.5. LE MARQUEUR DE LA SYPHILIS.....	3
	2
2. LES PROTOCOLES UTILISES AU LABORATOIRE POUR LE DIAGNOSTIC DES 4 INFECTIONS.....	3
	4
2.1. LE DIAGNOSTIC DE L'HEPATITE B.....	3
	4
2.2. LE DIAGNOSTIC DE L'HEPATITE C.....	3
	8
2.3. LE DIAGNOSTIC DE VIH.....	4
	1
2.4. LE DIAGNOSTIC DE LA SYPHILIS.....	4
	3
3. RESULTATS DE HBV – HCV – HIV.....	4
	5
4. RESULTAT DE LA SYPHILIS.....	4
	6
5. CONDUITE A TENIR.....	4
	7

**CHAPITRE 4 STRATEGIE DE PREPARATION ET D'UTILISATION DES
PRODUITS SANGUINS LABILES (PSL)**

1. STRATEGIE DE PREPARATION ET D'UTILISATION DES PRODUITS SANGUINS LABILES (PSL).....	4
	9

1.1. OBJECTIF.....	4
	9
1.2. LE DONNEUR	4
	9
1.3. GROUPE.....	5
	5
1.4. PREPARATION DES PRODUITS SANGUINS LABILES.....	5
	7
1.5. UTILISATION DE PRODUITS SANGUINS LABILES	5
	9
CHAPITRE 5 LES DECHETS	
1. LES DECHETS.....	6
	3
1.1. LES DECHETS D' ACTIVITES TRANSFUSIONNELLES.....	6
	3
1.2. COLLECTE DE DECHETS	6
	4
1.3. STOCKAGE DES DECHETS.....	6
	4
1.4. TRANSPORT DES DECHETS.....	6
	4
1.5. L'INCINERATION.....	6
	4
CONCLUSION	6
	6
RESUME	
REFERENCES	
ANNEXES	

INTRODUCTION

1. Introduction

La transfusion sanguine est une discipline aux confins de l'hématologie et de l'immunologie : elle implique la médecine, la biologie, la bio- industrie et la sociologie ; elle repose sur l'éthique. [1].

La transfusion sanguine est une thérapeutique substitutive qui consiste à apporter à un patient les éléments du sang qu'on appelle : les produits sanguins labiles (PSL) et qui sont représentées par le culot de globule rouge, les plaquettes, plasma et les facteurs de coagulation, [2] qui lui font provisoirement défaut en raison d'une hémorragie (intervention chirurgicale, traumatisme), d'une maladie (anémie...) ou d'un traitement (chimiothérapie...). C'est une thérapeutique vitale. [3].

Les globules rouges ont pour fonction le transport de l'oxygène vers les tissus. Leur transfusion est nécessaire en cas d'anémie importante et/ou de signes de mauvaise tolérance de celle-ci, dans le but d'éviter des complications, notamment cardiaques.

Les plaquettes sont indispensables à la formation d'un caillot. Elles sont transfusées si leur nombre est très insuffisant, dans le but de prévenir une hémorragie ou d'en faciliter l'arrêt.

Le plasma frais congelé contient les facteurs permettant la coagulation du sang. Leur transfusion est nécessaire lorsque le taux de ces facteurs dans le sang est trop bas, dans le but de prévenir une hémorragie ou d'en faciliter l'arrêt.

Les globules blancs contribuent à la défense contre l'infection. Il peut être nécessaire d'en transfuser lorsqu'ils sont pratiquement absents du sang.

D'une manière générale, tous les efforts sont faits pour limiter l'usage de ces produits au strict nécessaire. [4].

La mise à disposition des produits doit obligatoirement répondre à des règles des bonnes pratiques transfusionnelles : prélèvement, préparation, qualification biologique, distribution et indications cliniques. Le respect de ces règles est une nécessité absolue. [1]

En Algérie, la politique de la transfusion sanguine est menée par l'Agence Nationale du Sang qui est une institution (entreprise à caractère administratif) sous tutelle du Ministère de la Santé, de la Population et de la Réforme Hospitalière.

Ses activités tournent principalement autour des trois thématiques suivantes : l'organisation, l'évaluation et la normalisation des activités transfusionnelles ainsi que la formation, la recherche et la communication et ce, pour une sécurité transfusionnelle optimale.

L'Agence Nationale du Sang a élaboré et mis en place des textes réglementaires régissant l'activité transfusionnelle en particulier dans les domaines suivants :

- Régulation, création et attributions des structures de transfusion sanguine ;
- Liste des matériels et consommables nécessaires pour le fonctionnement des structures de transfusion sanguine ;
- Dépistage obligatoire de l'infection par le VIH, les virus des hépatites B et C et de la syphilis dans le don de sang et des organes ;
- Conditions de distribution du sang et de ses dérivés labiles ;
- Règles régissant le don de sang et de ses composants ;
- Règles régissant le prélèvement pour une transfusion auto logue programmée ;
- Règles de bonnes pratiques de préparation des produits sanguins labiles à usage thérapeutique ;
- Caractéristiques des produits sanguins labiles à usage thérapeutique ;
- Prévention et mesures à prendre en cas d'accident transfusionnel immunologique ou septique ;

-Règles et procédures de contrôle des dérivés sanguins stables.

La traçabilité des donneurs de sang est obligatoire. Elle est en effet régie par le texte réglementaire définissant les imprimés et les informations y figurer (fiche d'identification du donneur de sang, fiche de prélèvement du donneur de sang, la carte de donneur de sang).

La qualification infectieuse du don de sang est obligatoire pour les marqueurs du HIV, de l'hépatite virale B et l'hépatite virale C et ainsi que pour la syphilis. Les prévalences respectives sur les dons de sang sont de 0,01%, de 0,69 %, de 0,17 % et de 0,12 % durant l'année 2002.

Pour ce qui est des réactifs de sérologie infectieuse et immuno-hématologique, l'Institut Pasteur d'Algérie en est l'importateur et le distributeur aux hôpitaux. Ces réactifs sont évalués avant importation par une commission d'expertise désignée par l'Agence Nationale du Sang.

Les poches à sang, leur importation et leur distribution à l'échelle nationale est assurée exclusivement par la Pharmacie Centrale des Hôpitaux. Le contrôle de conformité de ces poches qui s'effectue avant la distribution, est réalisée par le Laboratoire National du Contrôle des Produits Pharmaceutiques. Par le biais des opérations planifiées qu'elle inscrit, l'Agence Nationale du Sang permet aussi le renforcement du programme de contrôle et de séparation du sang par l'acquisition d'équipements.

L'Agence Nationale du Sang applique le plan de développement et de réorganisation qu'elle met en place. Quelques wilayas ont commencé l'application de ce plan par le changement de locaux, la centralisation de certaines activités transfusionnelles comme la qualification du don et la préparation de PSL.[5].

**LA PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE**

1. MARQUEURS BIOLOGIQUES

Un marqueur biologique est un élément diagnostique essentiel. En effet, c'est grâce à lui qu'il est possible de détecter certaines maladies.

Le dosage des marqueurs sérologiques permet de mesurer tant les anticorps produits en réponse à l'infection virale que certains antigènes viraux. Les résultats peuvent être qualitatifs ou quantitatifs. Ils permettent de connaître la fraction d'IgG ou d'IgM des anticorps circulants, mais aussi les anticorps totaux en englobant toutes les fractions circulantes (IgG et IgM) [6][7].

Dans le cadre de ce travail nous allons nous intéresser aux marqueurs biologiques utilisés pour le dépistage ou le diagnostic du virus de l'hépatite B(HBV), virus de l'hépatite C(HCV), Le virus de l'immunodéficience (HIV) et syphilis au centre de transfusion sanguine(CTS) de Sidi Mabrouk Constantine.

1.1. LES INFECTIONS

Une infection désigne l'envahissement puis la multiplication de micro-organismes au sein d'un organisme vivant.

Ces micro-organismes peuvent être des virus (HBV, HCV et HIV), des bactéries (*T. pallidum*, Paludisme), des parasites (les protozoaires donnant la toxoplasmose). L'organisme va mettre en place des procédés de défense pour éradiquer le micro-organisme indésirable [8].

1.1.1. LES HEPATITES

Une hépatite virale est une infection provoquée par des virus se développant aux dépens du tissu hépatique. Les hépatites A, B et C sont regroupées sous le terme d'hépatites infectieuses parce qu'elles causent toutes trois des lésions du foie[9].

L'hépatite A est la moins grave des trois. Elle peut provoquer une affection pseudo-grippale pendant plusieurs semaines. Après cette période, le patient est immunisé à vie contre le virus de l'hépatite A. ce n'est pas le cas avec les deux autres hépatites, qui peuvent être mortelles, l'hépatite B peut provoquer une maladie chronique [10].

1.1.1.1. VIRUS DE L'HEPATITE B

Le virus de l'hépatite B (VHB en anglais: HBV) appartient à la famille des *Hepadnaviridae*, au genre *Orthohepadnavirus*, qui comprend en outre des virus animaux provoquant une maladie analogue chez leur hôte respectif [11].

L'hépatite B est un processus pathologique viral causé par le VHB, le virus existe à l'état endémique dans le monde. Il passe par les fluides corporels (le sang) de tout individu atteint d'infection chronique ou aigue[12].

a. Epidémiologie

Dans le monde, on estime à 2,5 milliards le nombre de personnes infectées ou ayant été infecté par le virus de l'hépatite B (VHB), soit 1/3 de la population mondiale. Parmi eux, 350 à 400 millions de personnes souffrent d'une hépatite chronique. L'histoire naturelle de l'infection par le VHB est variable, allant d'un état de porteur inactif à une hépatite B chronique, qui peut évoluer vers la cirrhose et le carcinome hépatocellulaire.

- Les régions de faible endémicité ou moins de 2 % de la population générale a une infection chronique. Elles sont représentées essentiellement par l'Europe de l'Ouest, l'Amérique du Nord et le Japon.

- Les régions de forte endémicité ou plus de 8 % de la population générale à une infection chronique sont essentiellement les pays en voie de développement (Afrique, Chine, Asie du Sud-est).

- Les régions d'endémicité moyenne ou 2 à 7 % de la population générale est porteuse d'une infection chronique, recouvrent le pourtour méditerranéen, l'Europe de l'Est et l'Amérique Latine[13].

L'Algérie appartient à la zone de moyenne endémicité, avec une prévalence de l'Ag Hbs de 2.16%, dans la population générale, 1.09% chez le donneur de sang, 1.8% à 2.2%

chez la femme enceinte et 10.5% chez les hémodialysés. La transmission virale se fait par voie parentérale, sexuelle et périnatale [14].

b. DESCRIPTION DU VIRUS DE L'HEPATITE B

b.1. Morphologie

La particule virale est sphérique et mesure 42-47 nm de diamètre. Le génome est contenu dans une nucléocapside icosaédrique de 22-25 nm de diamètre enveloppée par une bicouche lipidique associée à des protéines de surface. Cette enveloppe porte notamment l'antigène de surface HBs [14].

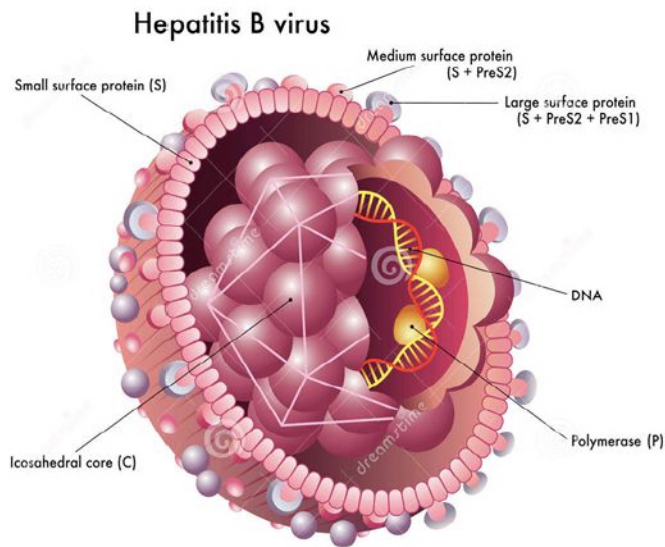


Figure 1 : Morphologie du virus de l'hépatite B (Villeneuve JP, 2010)

b.2. Structure

C'est un virus à enveloppe complexe et mesure 42nm de diamètre. La nucléocapside contient un ADN circulaire, partiellement monocaténaire et une ADN polymérase. Cette description correspond à la structure de la particule de DANE. L'enveloppe et le **core** renferment plusieurs antigènes dont HBs, HBe et HBc [15].

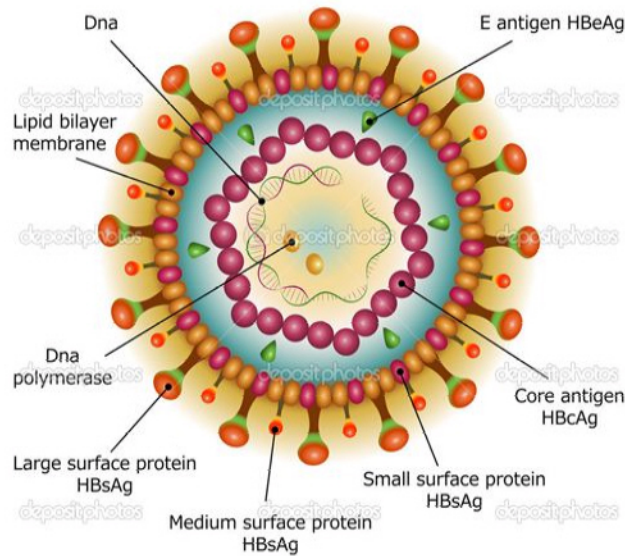


Figure 2 : Structure de particules de virus de l'hépatite B (Moonnoon, 2015).

b.2.1. Génome

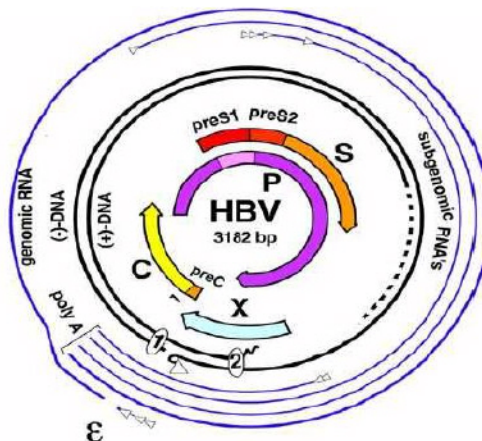


Figure 3 : Organisation du génome du VHB (SBAI, 2012)

Le génome est formé d'ADN circulaire (3200 nucléotides) partiellement double brin (sur les deux tiers de sa longueur) (SBAI, 2012).

Le virus possède un brin long (L-) d'une longueur de 3,2 kb fixe entre les différents mutants, et un brin court (S+) de longueur variable : de 50 % à 100 % de la longueur du brin L-.

Il existe 4 régions ouvertes dans le génome correspondant à 4 phases de lectures ouvertes situées sur le brin L-.

- La région S code pour les protéines d'enveloppe.(antigèneHBs)
- La région C code pour la protéine de core (antigène HBe)
- La région P code l'ADN polymérase virale de 82 kDa. Cette enzyme possède à la fois des activités de transcriptase inverse, d'ADN polymérase ADN-dépendante et de RNase H.
- La région X code un polypeptide de 145 à 154 acides aminés (dépendant du sous-type du virus). Ce polypeptide ou protéine X est une protéine transactivatrice du génome viral et cellulaire, elle a un potentiel oncogénique.

b.2.2. Protéome

✓ Protéines d'enveloppes

- protéine majeure de 24 kDa : codée par la région S.
- une protéine moyenne de 34 kDa codée par préS2+S.
- une grande protéine de 39 kDa codée par préS1+préS2+S. Ces protéines sont présentes sous forme glycosylée ou non glycosylée. La partie codée par la région préS1 est impliquée dans la fixation et la pénétration du virion au niveau de l'hépatocyte [16].

✓ Protéines du core

- **Protéine HBc (22 kDa)**: codée par la région C. sous forme polymérisée, elle constitue la capsid virale.

- **Protéine HBe (15,5 kDa)** : codée par la région pré-C et une partie de la région C. non polymérisée, cette protéine n'est pas constitutive de la particule virale mais elle est excrétée sous forme soluble par la cellule au cours de la réplication virale.

✓ ADN polymérase 82 kDa.

Permet la réplication du DNA viral et possède également une activité reverse transcriptase.

✓ Protéine X

Protéine non constitutive, elle joue un rôle de régulation dans la réplication virale. Elle exerce une activité transactivatrice sur les gènes viraux et des gènes cellulaires [17].

c. Cycle de réplication

Le cycle de réplication du virus se fait sous les hépatocytes.

- Le virion reconnaît et s'attache à l'hépatocyte. Le récepteur cellulaire du virus n'est actuellement pas identifié.
- Fusion entre l'enveloppe virale et la paroi cellulaire, libération de la nucléocapside dans le cytoplasme.
- Translocation de la nucléocapside vers le noyau grâce à des signaux de localisation nucléaire portés par l'antigène HBc. Pénétration de l'ADN du VHB dans le noyau.
- Par un mécanisme encore mal connu, l'ADN asymétrique ouvert dans la particule, devient double brin circulaire fermé de façon covalente dans le noyau. On parle alors d'ADNccc (CovalentlyClosedCircular DNA). L'ADNccc s'associe à des histones cellulaires pour former un « mini chromosome », l'ADN est à ce moment super enroulé. Un ARN pré-génomique est transcrit par une ARN polymérase II cellulaire à partir du brin L- de cet ADN superenroulé.
- Cet ARN pré-génomique synthétisé migre dans le cytoplasme et sert de matrice pour la synthèse de l'antigène HBc et de la polymérase.
- En parallèle, les différents ARNm viraux sont traduits en protéines virales.
- Les protéines d'enveloppe et la protéine PréC sont dirigées vers le réticulum endoplasmique (RE).
- L'antigène HBe et les protéines d'enveloppe passent dans l'appareil de Golgi.
- L'antigène HBe et les particules virales vides, constituées exclusivement de protéines d'enveloppe, sont sécrétés.
- De leur côté, l'ARN pré-génomique et la polymérase sont recrutés dans les capsides néoformées par l'antigène HBc.

- Le brin long d'ADN est synthétisé dans la capsidie par un processus de transcription inverse par l'ADN polymérase virale (étape apparentée au cycle de rééplication des rétrovirus).
- La synthèse du brin court S+ débute ensuite à partir du brin L- d'ADN qui vient d'être formé.
- Les nucléocapsides ont deux devenir. Une minorité va être recyclée vers le noyau pour maintenir le pool d'ADNccc. L'autre partie majoritaire va être envoyée vers le RE.
- Les nucléocapsides sont enveloppées.
- Les particules virales infectieuses sont sécrétées à leur tour [18].

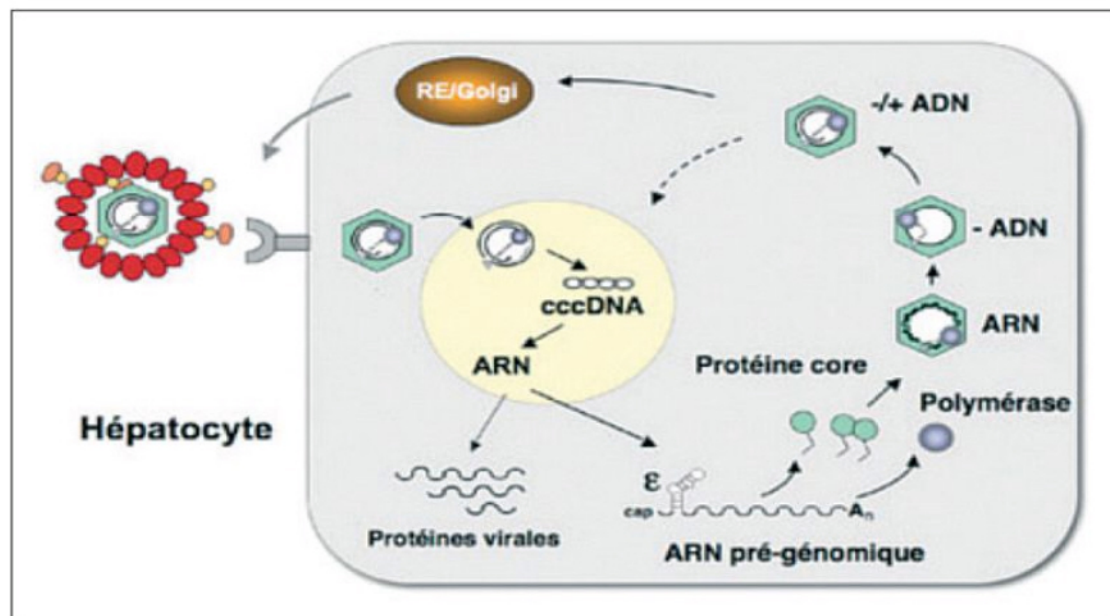


Figure 4 : Le cycle de réplication virale de l'hépatite B (Fattovich G, 2003)

d. Les différents marqueurs biologiques de l'hépatite B

- ✓ Marqueurs directs de la réplication virale
 - Ag HBs
 - Ag HBe
 - ADN viral
- ✓ Marqueurs indirects liés à la réponse immune
 - Ac Anti-HBc de type IgG
 - Ac Anti-HBc de type IgM

- Ac Anti-HBs
- Ac Anti-HBe[18].

1.1.1.2. LE VIRUS DE L'HEPATITE C

Le virus de l'hépatite C classé dans le genre *Hepacivirus* au sein de la famille des *Flaviviridae* cette famille comporte deux autres genres :

- Le genre *flavivirus* : comportant de nombreux virus tels que le virus de la fièvre jaune le virus de la dengue Encéphalite japonaise
- Le genre *Pestivirus* : comportant le virus de la diarrhée bovine [19].

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 vers une cirrhose (fibrose cicatricielle du foie) et enfin un cancer du foie[20].8

a. Epidémiologie

La transmission du VHC est essentiellement parentérale. La majorité des sujets infectés sont des anciens transfusés et des toxicomanes. La transmission par transfusion sanguine est devenue extrêmement rare en raison des contrôles effectués chez les donneurs de sang.

3% de la population mondiale présente une infection virale C chronique.

La prévalence des anticorps anti-VHC, en Algérie, est de 0,49% chez le donneur de sang 23,8%, chez les hémodialyses 31% chez l'hémophile. Dans la population générale, elle serait d'au moins 1% [13].

b. DESCRIPTION DU VIRUS DE L'HEPATITE C

b.1. Morphologie

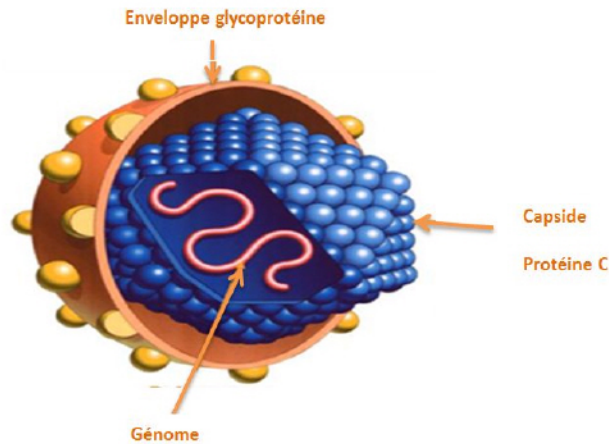


Figure 5 : Morphologie du virus de l'hépatite C (BAHRI.O. 2009).

b.2. Structure du virus

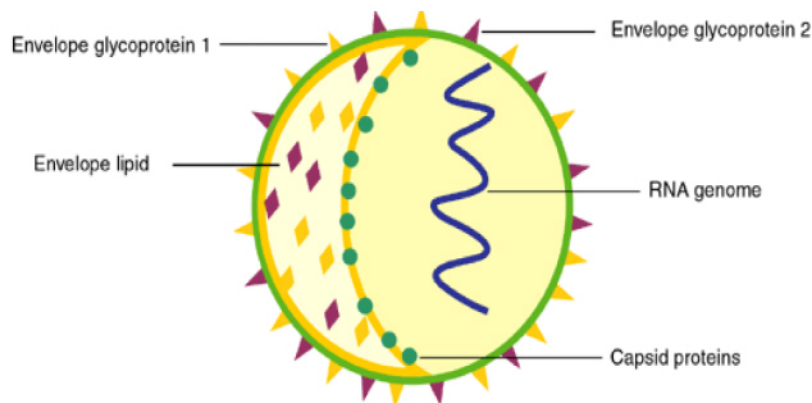


Figure 6: Structure de virus de l'hépatite C (Anzola. M et al.2003).

b.2.1. L'enveloppe

Le VHC est un virus enveloppé, de 55 à 65 nm de diamètre, est de nature lipidique[21]provenant des membranes de la membrane du réticulum endoplasmique[22]de la cellule hôte sur laquelle sont ancrées deux glycoprotéines virales transmembranaires E1 et E2[21]qui participent à la pénétration cellulaire du VHC en se fixant aux récepteurs de la cellule et en induisant la fusion de l'enveloppe virale avec les membranes cellulaires de l'hôte.

La protéine E2 est la cible préférentielle de la réponse immunitaire[22].

b.2.2. La capside

Une capside icosaédrique ; sert à protéger le virus et facilite le transfert de l'information génétique à la cellule [25].

La capside du VHC est constituée d'une protéine en hélice alpha appelée protéine de capsid C qui comporte à son tour trois domaines [25] :

- ✓ Domaine N-terminal D1 constitué de 117AA
- ✓ Domaine D2 constitué de 169AA
- ✓ Domaine D3 constitué de 20AA

b.2.3. Génome

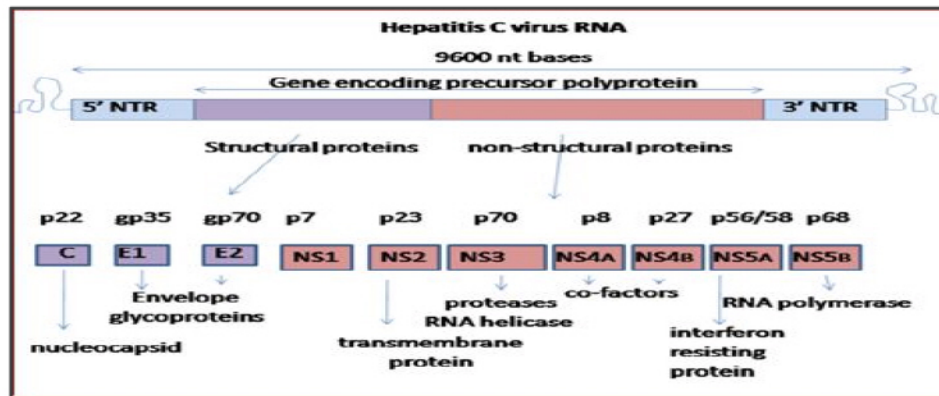


Figure 7 : Le génome de l'VHC (Amine SLIM, 2015).

Le génome du VHC est constitué d'un ARN monocaténaire de polarité positive d'une taille de 9600 nucléotide environ. Les régions non codantes situées aux extrémités 5' et 3' du génome encadrent une phase de lecture unique qui code pour une poly protéine de 3000 acide aminés environ se compose de trois parties [26-27].

- ❖ La région 5' non codante ; constituée de 341 à 344 nucléotides, est structurée en quatre domaines tige boucle. C'est une région très organisée et hautement conservée avec une similarité qui atteint au minimum 90 % pour les souches de VHC entre elles. Cette région permet la fixation de la sous-unité 40S du ribosome au niveau de l'IRES (Internal Ribosome Entry Site) rendant ainsi possible l'initiation de la traduction (de manière coiffe indépendante). Enfin la

région 5' NC porte le signal d'encapsidation, nécessaire à la formation de la nucléocapside [28].

- ❖ La région 3' non codante ; a une longueur variable de 200 à 235 nucléotides, elle est constituée (de 5' en 3') d'une région non traduite directement en aval de la protéine NS5B d'une longueur comprise entre 20 nt et 70 (de composition est variable en fonction des isolats mais fortement conservée de manière intra génotypique), d'une région polyuridylée de longueur variable (30 à 150 Pb) puis de la région X comprenant 98 nucléotides et qui est hautement conservée. La région X et la région polyuridylée semble dans l'ineffectivité du VHC [29].

Enfin la phase ouverte de lecture (ou ORF, Open Reading Frame) est de taille variable (9 024 à 9 111 nucléotides) selon les isolats. Elle code une poly protéine qui est clivée Co- et post-traditionnellement en dix protéines, en suivant la séquence suivante :NH2-Capside-E1-E2-p7-NS2-NS3-NS4A-NS4B-NS5A-NS5B-COOH.

Deux types de protéines sont alors produits, les protéines structurales et les protéines non structurales.

- ✘ Les protéines structurales : comportent la capsid et les deux glycoprotéines d'enveloppe (E1 et E2). Il existe aussi une protéine appelée protéine p7.
- ✘ Les protéines non structurales : assurent les fonctions enzymatiques utiles au cycle viral[30] :
 - NS2 qui est une protéine hydrophobe attachée à la membrane cellulaire
 - NS3, qui est une protéase virale
 - NS4A, qui est une protéine trans-membranaire cofacteur de NS3
 - NS4B qui est une protéine trans-membranaire responsable du réseau membranaire,
 - NS5A une phosphoprotéine virale,
 - NS5B est une polymérase virale

c. CYCLE DE REPLICATION DU VHC

❖ Fixation et entrée dans la cellule

L'étape tout initiale du cycle de l'infection virale est la fixation du virus à la cellule cible nécessitant une protéine virale et un récepteur spécifique. Les particules du VHC se lient d'abord aux récepteurs des LDL par les lipides associés aux virions ou les sucres (SR-B1) les virions sont transférés au CD81 qui interagit avec E2. CD81 migre alors vers la jonction de la cellule et transfère le virion aux récepteurs claudin et occludin qui permettent alors l'entrée par invagination. Le contenu est alors acidifié et le virus est relâché dans le cytoplasme. Le virus peut également entrer par DC-SIGN ou L-SIGN sur les cellules épithéliales du foie. Le virus présent dans les exosomes peut entrer dans la cellule grâce au CD81 présent sur les membranes.

❖ Traduction

La traduction est initiée grâce à l'IRES site interne d'entrée du ribosome au niveau du codon AUG en position 342 dans la région 5' NC où se fixent les sous-unités 40S des ribosomes. Cette activité IRES est modulée par plusieurs facteurs notamment la région X conservée de la région 3' NC du génome viral par un mécanisme encore inconnu. Des protéines cellulaires interviennent aussi dans la stimulation de la traduction comme la PTB citée ci-dessus mais aussi l'auto-antigène qui protégerait les ARN viraux de la dégradation par les RNAases cellulaires. Cette étape de traduction a lieu dans le réticulum endoplasmique rugueux. La polyprotéine est ensuite apprêtée et clivée en protéines matures nécessaires à la poursuite du cycle viral (livre d'hépatite bibliomédecine) [30].

❖ Réplication de l'ARN génomique

La réplication semble se faire en deux étapes catalysées par l'ARN polymérase ARN dépendante : elle synthétise un brin d'ARN négatif à partir du génome. Ce brin sert ensuite de matrice pour la synthèse de nombreux brins d'ARN positifs qui seront encapsidés et enveloppés pour devenir les génomes des particules virales néoformées. Ou qui serviront de nouveaux messagers pour la synthèse des protéines virales : structurales ou non structurales. Les protéines structurales sont constituées par la protéine de capside C et les deux glycoprotéines d'enveloppe E1 et E2. Les protéines non structurales sont des

protéines enzymatiques intervenant dans le cycle de réplication : protéases hélicases
ARN polymérase.

❖ **Assemblage et sécrétion des virions**

Les connaissances des modalités de l'assemblage et de la sécrétion des virions VHC est encore partielle du fait des limites des modèles d'étude. Les systèmes des (particules virales like : PVL) permettant l'expression de la totalité du génome dans des systèmes hétérologues (virus de vaccin) ont été récemment développés. Ils ont permis la production à la fois de particules (capsides matures) non enveloppées mais à des taux très faibles et non sécrétées car retenues dans vésicules intracellulaires. Ces résultats peuvent suggérer que la formation des particules virales soit initiée par la capsid virale contenant l'ARN génomique. Il existerait une fixation préférentielle de la nucléocapside néoformée avec la moitié 5 du génome viral. Ceci permettrait une encapsidation sélective des brins génomiques de la polarité positive et en même temps bloquerait la traduction via l'IRES ceci pourrait constituer un mécanisme d'arrêt de la traduction et de la transcription et de début de l'assemblage des virions. Cependant le processus temporel d'encapsidation du génome viral est inconnu.

Enfin qu'il y ait rétention des protéines d'enveloppe dans le système des VPL suggère fortement que, au cours de l'infection virale, les nucléotides virales acquièrent leur enveloppes par bourgeonnement dans les membranes du réticulum endoplasmique et du golgi ainsi les virions seraient sécrétés par la voie sécrétoire cellulaire [31].

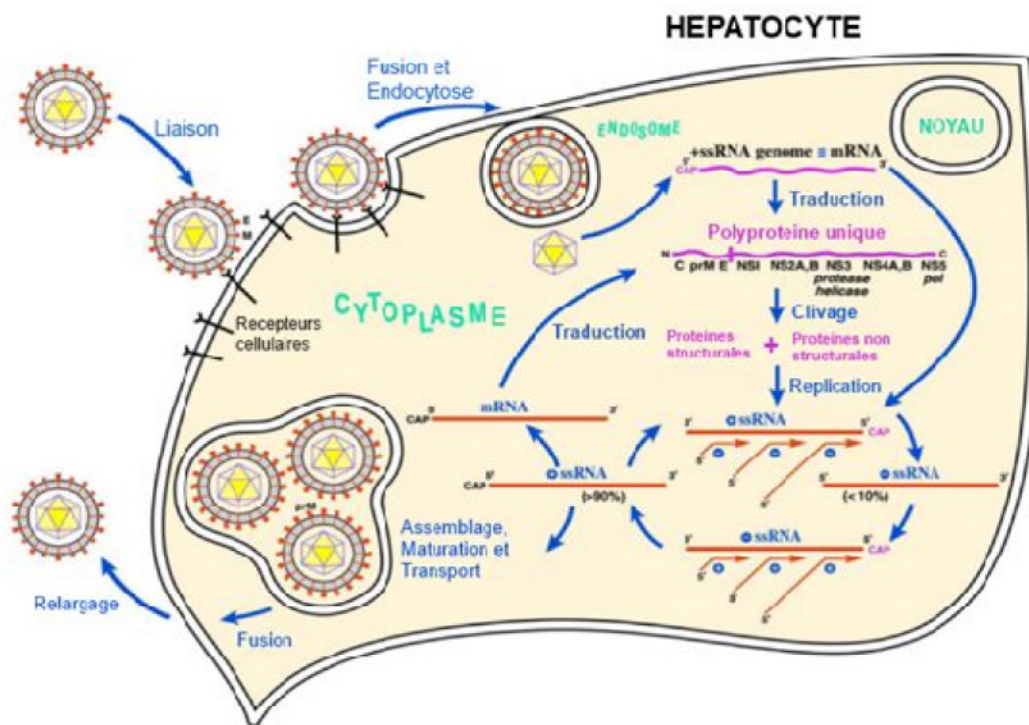


Figure 8 : Cycle de réplication de l'hépatite C

d. LES DIFFERENTS MARQUEURS BIOLOGIQUES DE VIRUS DE HCV

Il existe deux types de marqueurs[32]

➤ Les marqueurs directs

- Ag de capside(AgC)
- ARN VHC
- Génotype VHC
- Profil de résistance

➤ Les marqueurs indirects

- Anticorps anti-VHC totaux

1.1.1.3. LE VIRUS DE L'IMMUNODEFICIENCE (VIH)

Le responsable du sida est un rétrovirus de 0,1 μ m de diamètre appartenant à la sous famille des *Lentiviridae*[32].

Le virus de l'immunodéficiency humaine (VIH) est une maladie infectieuse épidémique, due à un virus qui s'attaque et se transmet par une voie sexuelle, sanguine et périnatale [33].

Il existe 2 types de VIH, le VIH-1 et le VIH-2, distincts par leur répartition géographique :

- le VIH-1, de loin le plus répandu, est présent dans le monde entier ;
- le VIH-2, plus rare, est essentiellement localisé en Afrique de l'Ouest.

Les infections à VIH-1 et à VIH-2 n'ont pas la même virulence ni la même Sensibilité :

Le VIH-1 est plus virulent que le VIH-2 car il se multiplie plus rapidement : il se transmet plus facilement, la durée d'incubation de l'infection est plus courte et, en l'absence de traitement, l'infection évolue plus vite vers le stade SIDA[34-35-36].

VIH-1 et VIH-2 .Chacun est caractérisé par sa répartition géographique et par son organisation génétique. Ils appartiennent à la famille des rétrovirus [37].

L'infection par le VIH est généralement facile à diagnostiquer une simple analyse sanguine permet de détecter la présence d'anticorps anti VIH, cette analyse est généralement très sensible sauf les premières semaines suivant l'infection, les résultats peuvent être négatifs même en présence d'une infection réelle [38].

a. EPIDEMIOLOGIE

Il a été estimé que depuis la découverte du SIDA au début des années 80, le VIH a causé la mort de plus de 25 millions d'individus de partout à travers le monde, dans le monde 34 millions de personnes ont été touchés par le VIH, la majorité de ces malades vivent dans les pays à revenu faible ou intermédiaire[38].

En Algérie selon les dernières statistique de l'institut Pasteur d'Algérie, une prévalence de 0,1% a été enregistrée, Soit 6615 personnes atteintes du SIDA, dont 1234 cas de SIDA, et 5381 séropositifs enregistrés à la période allant de 1985 jusqu'au 30

septembre 2011. Ces chiffres sont contestés par plusieurs associations. D'après eux, ces chiffres semblent être loin de la réalité du terrain[40].

b. DESCRIPTION DU VIRUS DU SIDA

b.1. Structure

Le VIH est un virus à ARN, il comprend des principales parties :

- ***Une enveloppe externe***

Constituée d'une double couche lipidique dans laquelle sont fixées deux glycoprotéines :

- **Glycoprotéine 120 (gp 120)**

Protéine membranaire portée par la membrane du virion, elle intervient en particulier dans la fixation du virus du SIDA aux lymphocytes T CD₄, elle est capable de se fixer aux récepteurs de ces cellule (fixation sur d'autres récepteurs, tels que la CCR-5 ou CXCR-4).

- **Glycoprotéine 41 (gp 41)**

Protéine transmembranaire travers la membrane du virion, elle intervient en particulier dans la fusion la membrane du virus du SIDA aux lymphocytes T4 infecté, elle est capable de s'insérer dans la membrane du lymphocyte après la fixation de gp120 au récepteur CD4.

- **Capside extérieur « matrice »**

Coque protéiques de répétition d'une sous unité protéique (p17 gag). Elle permet de protéger le matériel génétique du virus. P17 est issue de la protéolyse d'un précurseur protéique virale (gag p55) par une protéase virale. P17 est associé à la membrane du virion.

- **Capside intérieur « capsid »**

Coque protéiques de répétition d'une sous unité protéique (p24 gag). Elle permet de protéger le matériel génétique du virus. P24 est issue de la protéolyse d'un précurseur protéique (gag p55) par une protéase virale. P24 est associé à la par une protéase virale.

- ✚ Le VIH possède la particularité de disposer de deux capsides. Elle formée de p24 est la plus interne, et elle formée de p17 gag externe [41].

b.2. Le génome du VIH

Il est composé un ARN simple brin présent en double exemplaire. Cet ARN est rétrotranscrit en ADN_C dans le cytoplasme de la cellule hôte.

En plus des molécules d'ARN sont localisés trois enzymes essentielles :

- ✗ Transcriptase inverse : ADN polymérase qui permet la synthèse de l'ADN_C double brin, correspond à l'ARN virale.
- ✗ Intégrase : qui est nécessaire pour l'intégration de la forme ADN du génome du VIH dans l'ADN nucléaire des cellules hôte.
- ✗ Protéase : qui intervient plus tard dans le cycle d'existence du virus, elle constitue comme la RT une cible thérapeutique pour les médicaments de l'infection du VIH[42].

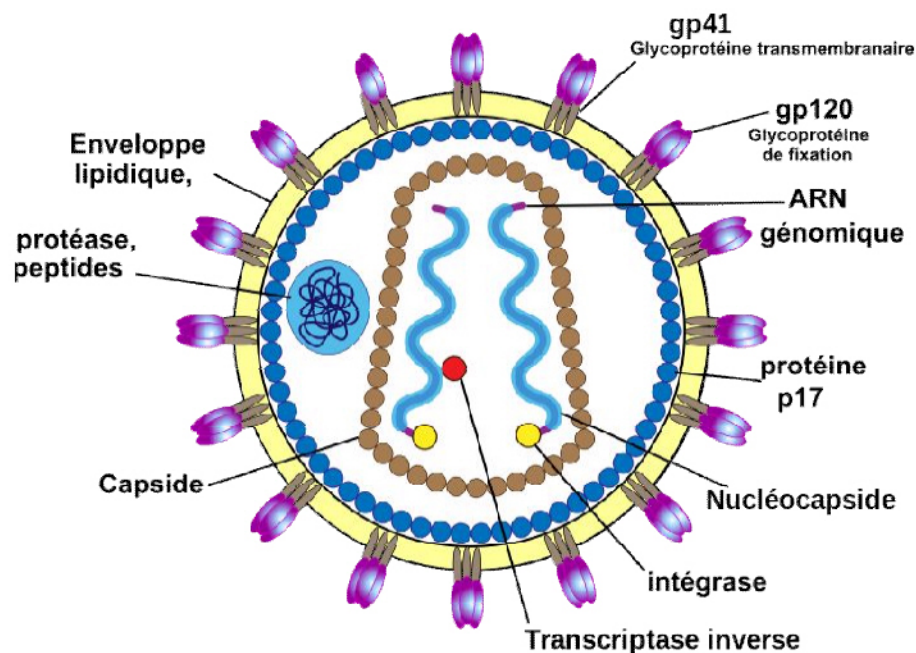


Figure 9 : Structure du virus d'immunodéficience humaine (toony.2010).

❖ Corécepteurs du VIH

Le récepteur CD 4 seul est insuffisant pour une pénétration du VIH dans la cellule. Des corécepteurs sont nécessaires. Parmi ceux-ci, on peut citer deux protéines transmembranaires :

- CXCR-4 : exprimé par lymphocyte T.
- CCR-5 : exprimé par les macrophages.

Ces corécepteurs ne sont pas des protéines spécifiques des lymphocytes T4 : de nombreuses autres cellules les possèdent. Toutes les souches de VIH n'utilisent pas le même corécepteur. Il existe aussi d'autres corécepteurs possibles... [43-44].

c. Cycle d'infection du VIH

VIH est capable d'infecter divers cellules du corps humain. Il s'agit en particulier des cellules du système immunitaire telles les lymphocytes T4.

❖ Attachement

La protéine virale gp 120 portée par la membrane du VIH est capable de se lier spécifiquement à la récepteur CD4 portée par la membrane des lymphocytes T4. Cette association permet la fixation du VIH à ces cellules.

En plus de CD4 une autre protéine lymphocytaire intervient : il s'agit d'un corécepteur (CXCR4 ou CCR5).

❖ Pénétration

Une fois le VIH fixé à la membrane du lymphocyte la protéine virale gp41 peut s'insérer dans la membrane lymphocytaire. Elle permet alors une fusion des 2 membranes.

Le virus entouré de ses 2 capsides protéiques (mais sans sa membrane) peut alors pénétrer dans le cytoplasme du lymphocyte. Il va ensuite se débarrasser de ses capsides.

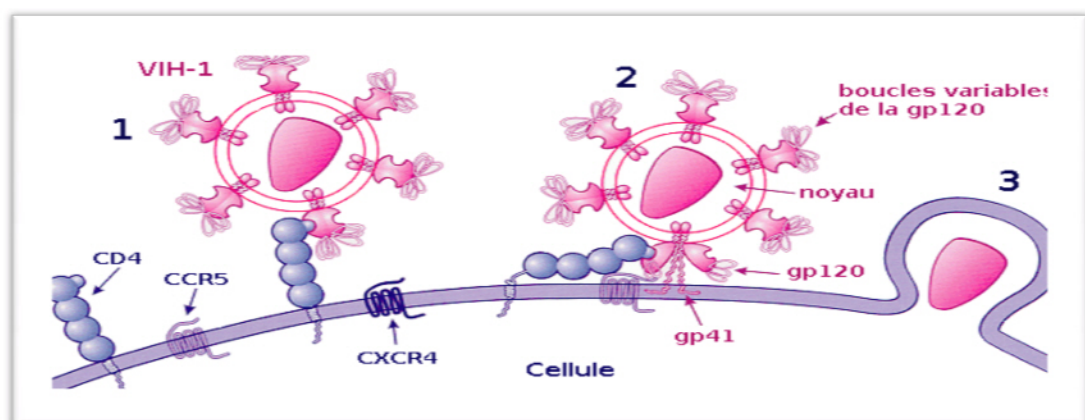


Figure 10 : Les étapes de pénétration de VIH à la cellule (Sano, 2007).

❖ Décapsidation

La dissociation des 2 capsides permet de libérer l'ARN virale dans le cytoplasme du lymphocyte T4. Pour pouvoir d'exprimer le génome du VIH doit alors être rétrotranscrit en ADN double brin.

❖ Réplication

Chaque ARN virale est associé à une transcriptase inverse. Cette enzyme est capable de synthétiser tout d'abord un brin d'ADN de l'ARN virale.

Puis elle synthétise le brin complémentaire d'ADN pour aboutir à un ADN double brin. Cet ADN peut ensuite pénétrer dans le noyau ou il se circularise.

❖ Intégration et transcription

Une fois dans le noyau de la cellule infectée l'ADN du virus du SIDA s'intègre à l'ADN de cette cellule. L'information génétique du VIH peut alors s'exprimer en utilisant pour cela la machinerie du lymphocyte.

L'ADN virale est tout d'abord transcrit en ARN grâce à une ARN polymérase du lymphocyte (il y a en fait plusieurs ARN synthétisés) cet ARN va ensuite quitter le noyau pour être traduit.

❖ Traduction

Les ARN_m du VIH subissent des maturations complexes. A la suite de celle-ci, ils sont traduits en différents précurseurs protéique. Grâce à l'action de protéase (cellulaire et virale).ces précurseurs sont clivés pour former les différentes protéines constituées du VIH. Il est maintenant possible d'assembler le virion.

❖ Assemblage

L'ARN viral est associé aux protéines virales : l'ensemble permet de reformer un virus en capside.

Les protéines virales membranaires du virus sont le plus intégrées à la membrane de la cellule lymphocytaire. Tout est prêt pour le bourgeonnement.

❖ Bourgeonnement

Les nouveaux virions sont produits par le bourgeonnement : les 2 capsides contenant le matériel génétique et quelques protéines s'associent à un fragment de membrane plasmatique qui contient les protéines membranaires virales. Un tel mode de libération des nouveaux virus permet de conserver la cellule infectée.

❖ Libération

La machinerie cellulaire du lymphocyte infecté a été détournée par le virus : grâce à elle, il a pu se répliquer. Milieu extracellulaire (sang, lymphe ...) suite au bourgeonnement. Ils peuvent se fixer sur de nouvelles cellules [45-46-47-48-49-50].

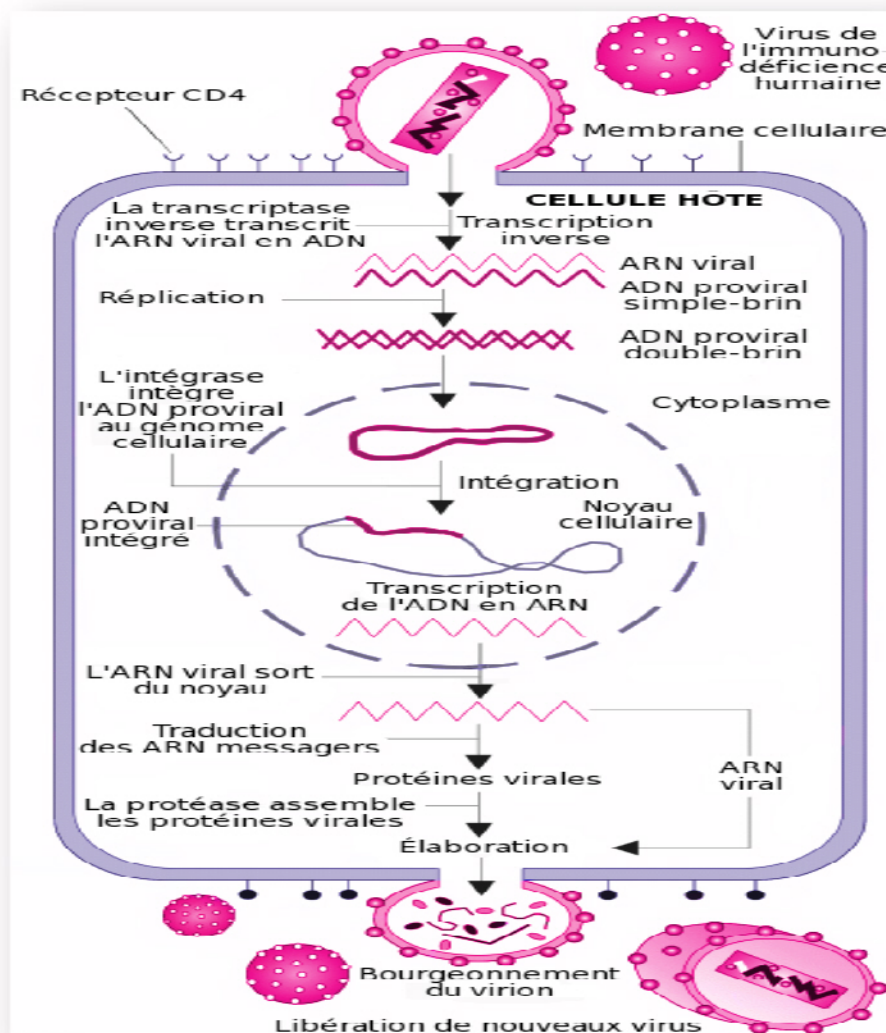


Figure 11 : Cycle de réplication du VIH (Sano, 2007).

d. Les différents marqueurs biologiques de virus HIV

L'infection à VIH peut être mise en évidence soit par la découverte dans le sang d'anticorps, soit par la recherche du virus, lui-même ou encore de certains gènes viraux. Les marqueurs biologiques recherchés en pratique courante à partir d'un prélèvement sanguin sont [51]:

✓ Marqueurs directs

- l'ARN du VIH (ARN-VIH), recherché par des techniques de biologie moléculaire.

✓ Marqueurs indirects, ou sérologiques

- Les anticorps anti-VIH-1 et VIH-2.
- L'antigène p24 (Ag p24)

1.1.1.4. SYPHILIS

<i>Phylum</i>	<i>spirochaetes</i>
<i>Classe</i>	<i>spirochètes</i>
<i>Ordre</i>	<i>spirochaetales</i>
<i>Famille</i>	<i>treponematose</i>
<i>Genre</i>	<i>treponema</i>
<i>Espèce</i>	<i>T.pallidum</i>

La syphilis est une infection sexuellement transmissible contagieuse, elle est due à une bactérie : *Treponema pallidum*[52-53-54].

La syphilis primaire est caractérisée par des boutons rouges et des ulcères non douloureux dans la région anale). La syphilis secondaire est caractérisée par de la fièvre, une fatigue, des maux de tête, des rougeurs et éruptions cutanées, ainsi qu'une inflammation des ganglions. Enfin, les symptômes de la syphilis tertiaire sont une inflammation de l'aorte, un anévrisme ou une sténose aortique, des céphalées, des vertiges et une modification de la personnalité...)[55].

a. Description du la syphilis

a.1. Morphologie

Treponema pallidum est l'agent responsable de la syphilis, c'est une bactérie mobile de forme hélicoïdale, mesurant de 8 à 15 micromètres de long pour 0,2 micromètres de diamètre.

Elle appartient à la famille des Spirochètes dont le seul hôte connu est l'Homme.

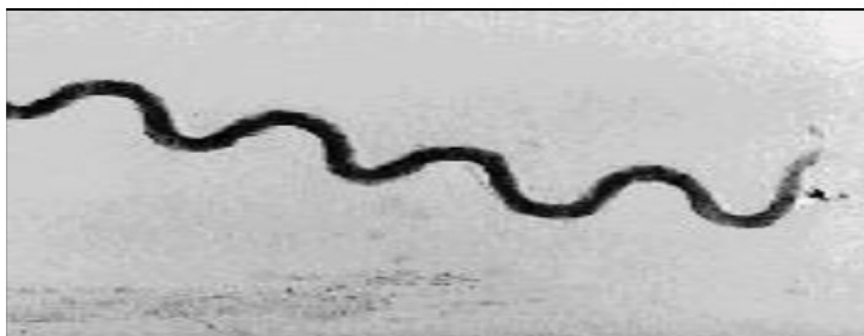


Figure 12 : Morphologie du *Treponema pallidum* agent de la syphilis(Gavin E, 2006).

Treponema pallidum est une bactérie non cultivable dans un milieu artificiel, et ne se colore pas bien par des colorants habituels (le bleu de Mytilène, la fuschine...), mais on l'observe habituellement à l'état frais au microscope à fond noir, ou après coloration spéciale (immunofluorescence, imprégnation argentique)[56].

Structure

Treponema pallidum a une structure complexe. Quatre groupes d'antigènes ont été mis en évidence :

- ✘ **Le cardiolipide ou haptène lipidique de Wasserman**:C'est un phosphatidyl-glycérol commun à tous les tréponèmes et présent dans les tissus animaux. Associé à des protéines du tréponème, cette haptène devient antigénique et suscite la formation d'anticorps appelés réagines.
- ✘ **Un antigène protéique spécifique de groupe**: Il est extrait du tréponème de Reiter et peut être utilisé en réaction de fixation du complément.
- ✘ **Un antigène polyosidique d'enveloppe**: Il est spécifique de *Treponema pallidum*et suscite la formation d'anticorps décelables par immunofluorescence.
- ✘ **Des antigènes du corps tréponémiques**: Leur nature est mal connue. Ils suscitent la formation d'anticorps très spécifiques de *Treponema pallidum*[56].

b. Epidémiologie

La syphilis est devenue un problème de santé publique dans plusieurs pays du monde. Selon l'organisation mondiale de la santé ; 12 millions de nouveaux cas de syphilis peuvent être recensés chaque année dans le monde. En Amérique latine, l'incidence de la maladie est de 3 millions par an.L'Asie du sud-est et l'Afrique subsaharienne on note un fort accroissement estimé à 4 millions de cas par an [56-57].

c. Mode de transmission

Il est essentiellement sexuel car le germe est très fragile à l'extérieur: à partir des chancres plus ou apparents les Tréponèmes sont libérés et passent au travers de la muqueuse du partenaire (anale, génitale ou buccale et même la peau dans le cas de la roséole avec des lésions muqueuses érosives)[58]. Donc la syphilis se transmet par des rapports sexuels non protégés, par voie sanguine et par voie transplacentaire pendant la grossesse, de la mère à l'enfant[57].

d. Les différents marqueurs biologiques de la syphilis

La syphilis est une maladie causée Par le spirochète *T.pallium* entraîne la production d'anticorps de spécificités distinctes :

- ✓ **Anticorps non spécifiques anti lipidiques** : ce sont des anticorps assimilés à des réagines qui sont dirigées contre des composés tissulaires à la suite des lésions provoquées par la bactérie. Rechercher par les tests suivants :
 - VDRL
 - Rapid Plasma Reagin test (RPR)
 - test de Bordet et Wassermann
- ✓ **Anticorps anti-tréponémique spécifique** : ces anticorps sont détectés en utilisant la souche de *T. Pallidum* comme antigène ; plusieurs méthodes de sensibilité plus au moins équivalentes sont utilisées au laboratoire pour les détecter et les quantifier par :
 - TPHA
 - Fluorescent Treponemal Antibody Absorption Test (FTA abs)
 - Treponema Pallidum Particle Agglutination (TPPA)[59].

LA PARTIE PRATIQUE

1. DIAGNOSTIC

En 2015 les diagnostics au CTS Sidi Mabrouk Constantinereposent sur le dépistage des agents infectieux grâce à la recherche d'anticorps ou d'antigène. [54].

Les recommandations du Ministère de la Santé et l'Agence National du Sang exigent la recherche systématique de :

- ❖ l'hépatite B l'antigène HBs (Ag HBs).
- ❖ l'hépatite C les anticorps anti-VHC.
- ❖ l'infection à VIH les anticorps anti-VIH 1 et VIH 2.
- ❖ la syphilis les anticorps anti-tréponémiques.

1.1. LE MARQUEUR DE L'HBV

Au niveau de laboratoire d'analyse on utilise le marqueur Ag HBs pour le diagnostic du HBV.

1.1.1. L'antigène HBs

Antigène HBs trouvé principalement dans le sang de malades atteints de l'hépatite B. Il correspond à l'antigène de surface du virus de l'hépatite B.

Il constitue actuellement le marqueur sérologique le plus couramment utilisé pour le diagnostic des infections aiguës et chroniques dues au virus de l'hépatite B et pour ledépistage des donneurs de sang et d'organes. [56-57].

1.1.2. LES CRITERES DE CHOIX

L'Ag HBs semble être un bon marqueur non invasif prédictif d'une réponse virologique soutenue. Il constitue également un bon reflet indirect du contenu intra-hépatique en ADN viral et/ou de l'ADN super enroulé ce qui est important pour le suivi d'une hépatite chronique B. Cependant, ces données restent encore à être confirmées, sur des études plus larges, avant d'introduire ce test en diagnostic de routine.[58-59].

1.2. LE MARQUEUR DE L'HCV

Au niveau de laboratoire d'analyse on utilise le marqueur **Anticorps anti- VHC totaux** pour le diagnostic du HCV.

1.3. LE MARQUEUR DE L'HIV

Au niveau de laboratoire d'analyse on utilise le marqueur **Anticorps anti-VIH-1etVIH-2** pour le diagnostic du HIV.

3.2 Mécanisme réactionnelle

Les tests immuno-enzymatique sont des techniques appliquées à la recherche d'antigène ou d'anticorps dans le plasma ou le sérum humain (donneur).

Il existe trois types de tests ELISA (direct, indirect et de type sandwich).

Aulaboratoire nous utilisant le test ELISA indirect.

Le test comporte des étapes principales :

✘ Fixation de l'antigène

L'antigène connu, spécifique à l'anticorps recherché, est incubé sur une plaque de microtitration. L'antigène va se fixer de manière électrostatique au fond des puits. Ils sont ensuite lavés pour enlever les antigènes non fixés.

✘ Fixation de l'anticorps

On incube notre échantillon à doser (sérum contenant l'anticorps), ainsi que nos standards (solution contenant des concentrations connues d'anticorps). Les anticorps spécifiques vont se fixer aux antigènes. Un lavage des puits est nécessaire pour enlever les anticorps non fixés.

✘ Fixation de l'anticorps de détection

On incube ensuite un anticorps secondaire couplé à une peroxydase. C'est un anti IgG qui va donc reconnaître l'anticorps primaire. Un lavage des puits est nécessaire pour enlever les anticorps secondaires non fixés.

✘ Révélation

On incube un substrat spécifique à l'enzyme qui, si la réaction est positive (présence de l'anticorps recherché), va être transformé et induire une coloration bleue. L'intensité de

la coloration est proportionnel à la quantité d'enzyme présente et donc à la concentration d'anticorps recherchés. [60].

NB: L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité d'enzyme présente et donc à la concentration d'anticorps recherchés. Plus la coloration est bleue est plus le patient présente d'anticorps. [60].

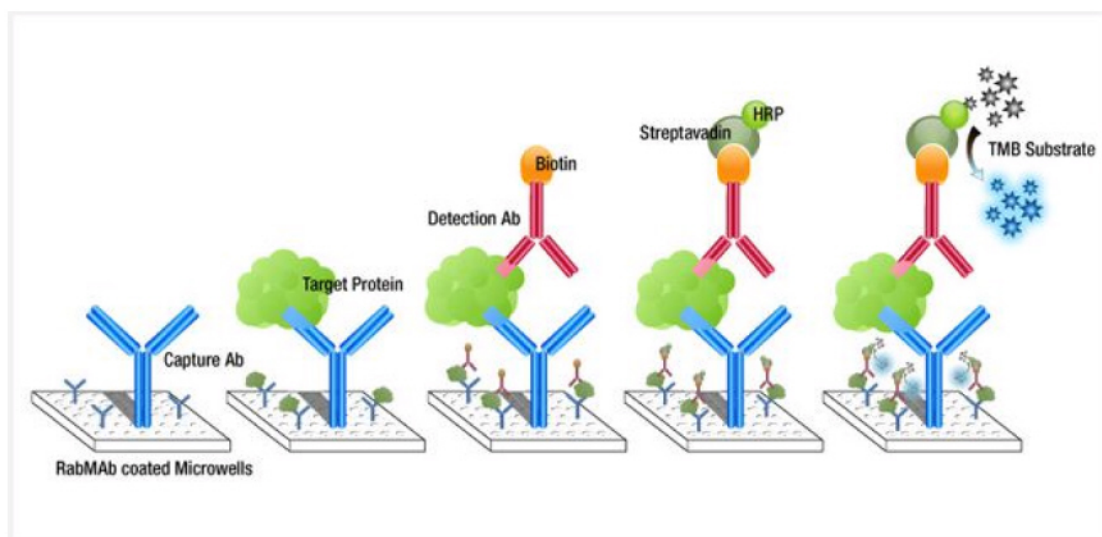


Figure 13 : méthode d'ELISA indirect

III. 4. LE MARQUEUR DE LA SYPHILIS

Au niveau de laboratoire d'analyse on utilise le marqueur Anticorps anti-tréponémique pour le diagnostic du la syphilis.

4.1 Anticorps anti-tréponémique

Est constitué par un lysat de *T. pallium* adsorbé sur des globules rouges ovins ou aviaires (moutons ou dindes).

La souche utilisée est une souche gardée sur des testicules de lapin (souche Nichols). Le lysat de la souche Nichols est adsorbé de préférence sur des globules rouges aviaire préalablement tannés et formolés, ces hématies sensibilisées constituent dans la réaction TPHA.[54].

4.2 Les critères de choix

Dans le cadre de la qualification biologique des dons, le dépistage obligatoire des anticorps anti-tréponémiques se fait par le TPHA uniquement, dans le but de prévenir une éventuelle transmission de *Treponema pallidum* par les produits sanguins transfusés et d'informer les donneurs dépistés. [61-62].

4.3 La nature chimique

Est un phospholipide commun aux tréponèmes et présent également dans de nombreux organismes (bactéries, végétaux, animaux). Il a été suggéré que l'antigène cardiolipidique dérive du génome de l'hôte du *Treponema pallidum*, qui l'intègre à sa membrane dans une configuration qui le rend antigénique. [54]

4.4 Mécanisme réactionnelle

Les techniques d'agglutinations indirectes permettent la détection des antigènes ou des anticorps connus sont fixés sur une particule qu'on dira sensibilisée, si la recherche d'un anticorps, celui-ci en se liant aux antigènes fixés sur les particules, va provoquer la formation d'une agglutination, on parlera d'hémagglutination quand la particule est une hématie. [54]

Il y a deux tests réalisés avec chaque antigène en général : VDRL et TPHA

La technique utilisée au laboratoire est la TPHA (Treponema pallidum Haemagglutination Assay) est une réaction d'hémagglutination passive permettant de mettre en évidence dans le sérum du patient la présence ou non d'anticorps dirigés contre l'antigène polysidique constituant de l'enveloppe spécifique de *Treponema pallidum*. [54]

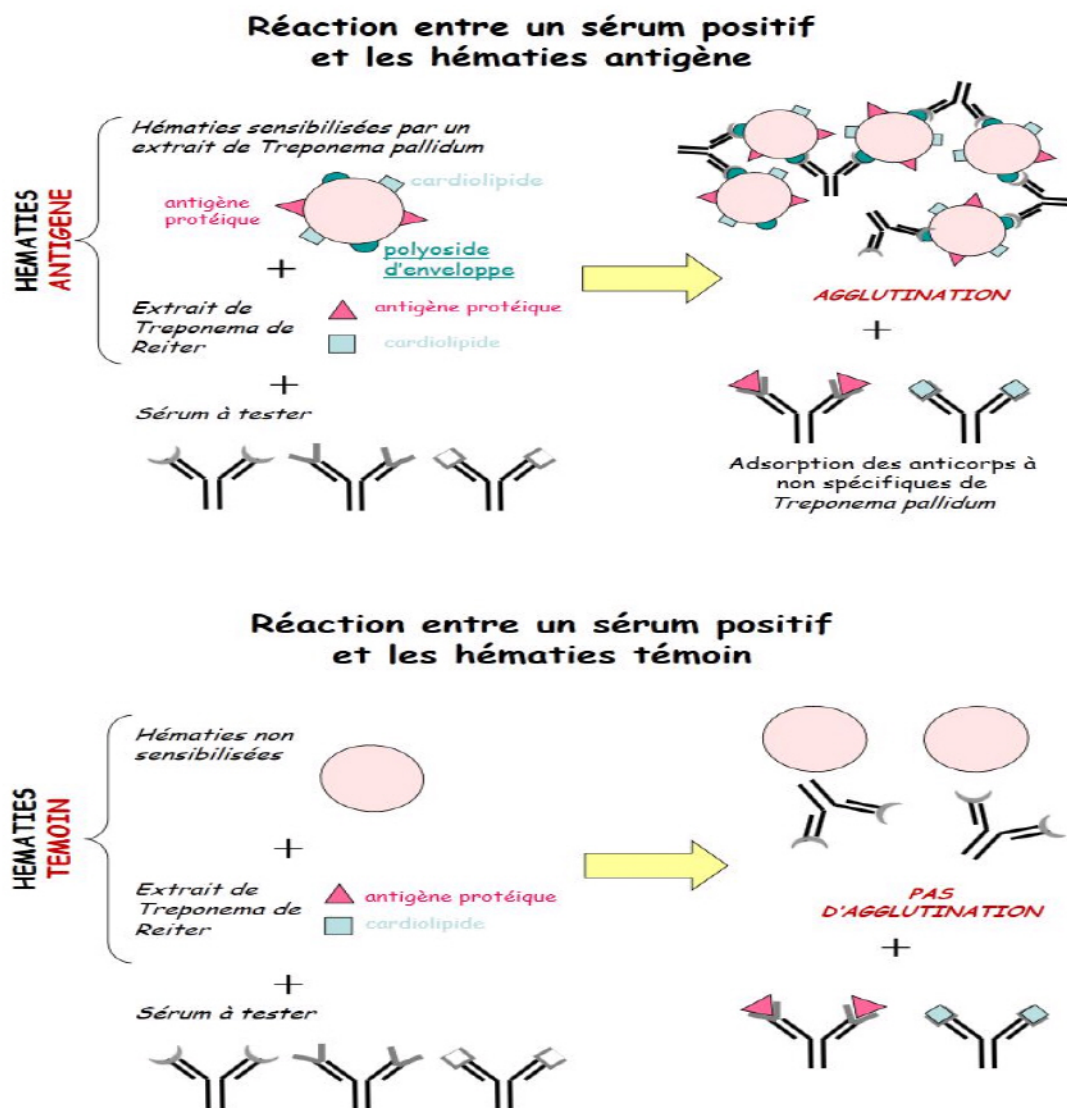


Figure 14 : mécanisme réactionnel d'hémagglutination.

III. 5. Les protocoles utilisés au laboratoire pour le diagnostic des 4 infections

Chaque laboratoire et chaque trousse (KIT) à la sa propre prospective qui respect mais le principe reste le même (la réaction anticorps-antigène).

5.1. LE DIAGNOSTIC DE L'HEPATITE B

1) Matériel

- Centrifugeuse de paillasse réglé à la vitesse de (2000Tours/minutes), adaptable aux tubes à 5-10ml.(thermo,fréquence : 11175670)
- Réfrigérateur (J.Rselecta, fréquence :2101497)

- Bain marie ou incubateur sec, pouvant être thermostaté à 37 °C (thermo made in France, fréquence : 42741000)
- Laveur (thermo made in France, fréquence : 5150770)
- Spectrophotométries 340nm (thermo made in France, fréquence : 41290002)
- Spectrophotométrie
- la trousse (kit) d'ELISA (Ag HBs, anti HCV, anti HIV-1 et 2).
- Micropipette réglable: monoclonal (20-100µl et 200-1000µl) et multicanaux (8canaux de 20-100µl)
- Les embouts jaunes (0-100µl)
- Les embouts bleus (100-1000µl)
- Portoir pour des tubes de 5-10ml
- Conteneur pour déchets
- Gants en latex
- Gaze hydrophile
- désinfectant : eau de javel
- Papier absorbant

2) Réactifs

Sérum Contrôle négatif

Protéine stabilisé tampon testé ne réagit pas avec les antigènes du HBV

Stable pendant un mois à 2-8⁰C.

Sérum de contrôle positif

Sérum humain constitue antigène HBs dilué.

Stable pendant un mois à 2-8⁰C.

Diluant des échantillons

Protéine qui stabilisé le tampon de caséine et de solution de saccharose

Stable pendant un mois à 2-8⁰C.

HRP réactif conjugué

Des Anticorps anti- IgG lyophilisées et marqués à la peroxydase

Stable pendant une semaine à la température ambiante ou pendant deux semaines à 2-8°C.

Chromogène solution A

Solution de peroxyde d'urée

Stable pendant un mois à 2-8 ° C.

Chromogène solution B

Solution de TMB (Tétraméthyl benzidine dissous dans de l'acide citrique)

Stable pendant un mois à 2-8 ° C.

Une solution d'arrêt

Une solution d'acide sulfurique dilué (2,0 M)

- ***Avant utilisation les réactifs attendre 30 minutes pour s'équilibrer à la température ambiante (18-30°C).***

3) Méthodes

- Préparer le nombre des barattes nécessaires (selon le nombre d'échantillon)
 - 3 puits pour le contrôle négatif,
 - 1 puits pour le contrôle positif
 - 1 pour le blanc.



- Déposer 50 μ l de contrôle négatif et de contrôle positif et l'échantillon dans leurs puits respectifs.
- ajouter 50 μ l le conjugué HRP à chaque puits, sauf le blanc.
- Mélanger en tapotant doucement la plaque.



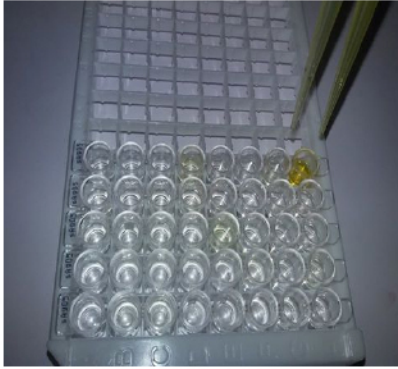
- Couvrir la plaque et incuber pendant 60 minutes à 37 °C, dans un incubateur sec thermostat pour assurer la stabilité et l'humidité la température.



- Après l'incubation sortir la plaque, puis laver cinq fois chaque puits avec la solution de lavage dilué.



- Délivrer 50 μ l de chromogène A et B dans chaque puits, y compris le blanc.
- mélanger en tapotant la plaque doucement.
- Incuber la plaque pendant 15 min à 37 °C, en évitant la lumière de la réaction enzymatique entre les solutions de chromogènes A / B qui produit la couleur bleu dans le contrôle positif.



- Après l'incubation, ajouter 50 µl de solution d'arrêt dans chaque puits qui produit la couleur jaune dans le contrôle positif
- mélanger en tapotant doucement la plaque.

- Cinq minutes après l'arrêt de la réaction mesure et lire l'absorbance de la plaque à 450 nm.

Le contrôle qualité est vérifié et validé pour les résultats suivants :

- ❖ Si la DO de blanc qui contient uniquement le substrat (chromogène A et B) et la solution d'arrêt, doit être inférieur à **0.080** à 450 nm.
- ❖ Si la DO de contrôle positif doit être supérieur ou égale à **0.800** à 450 nm.
- ❖ Si la DO de contrôle négatif doit être inférieur à **0.100** à 450 nm.

- Calculer la valeur de seuil (V_s) par la relation suivante :

$$V_s = \text{la moyenne de contrôles négatifs} + 0.12$$

- ✓ Si la V_s inférieur l'absorbance de l'échantillon qui signifie l'absence d'infection.
- ✓ Si la V_s supérieur l'absorbance de l'échantillon qui signifie contamination confirmer.

5.2 LE DIAGNOSTIC DE L'HEPATITE C

1) *Matérielle même*

2) *Réactif le même sauf*

Sérum Contrôle négatif

Protéine stabilisé tampon testé ne réagit pas avec les anticorps du HCV

Stable pendant un mois à 2-8⁰c

Sérum de contrôle positif

Sérum humain constitue Anticorps anti- VHC dilué.

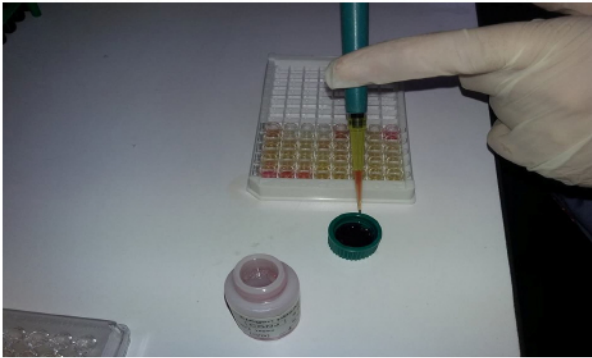
Stable pendant un mois à 2-8⁰c

3) Méthodes

- Préparer le nombre des barattes nécessaires (selon le nombre d'échantillon)
 - 3 puits pour le contrôle négatif
 - 1 puits pour le contrôle positif
 - 1 pour le blanc
- Déposer 100µl du diluant dans chaque puits exceptionnel le blanc.
- Ajouter 10 µl de contrôle négatif et de contrôle positif et l'échantillon dans leurs puits respectifs.
- Mélanger en tapotant doucement la plaque.
- Couvrir la plaque et incuber pendant 30 minutes à 37 °C, dans un incubateur sec thermostat pour assurer la stabilité et l'humidité la température.



- Après l'incubation sortir la plaque, puis laver cinq fois chaque puits avec la solution de lavage dilué.
- Ajouter 100 µl le conjugué HRP à chaque puits, sauf le blanc.



- Couvrir la plaque et incuber pendant 30 minutes à 37 °C, dans un incubateur sec thermostat pour assurer la stabilité et l'humidité la température.
- Après l'incubation sortir la plaque, puis laver cinq fois chaque puits avec la solution de lavage dilué.
- Délivrer 50 µl de chromogène A et B dans chaque puits, y compris le blanc.
- mélanger en tapotant la plaque doucement.
- Incuber la plaque pendant 15 min à 37 °C, en évitant la lumière de la réaction enzymatique entre les solutions de chromogènes A / B qui produit la couleur bleu dans le contrôle positif.
- Après l'incubation, ajouter 50 µl de solution d'arrêt dans chaque puits qui produit la couleur jaune dans le contrôle positif
- mélanger en tapotant doucement la plaque.



- Cinq minutes après l'arrêt de la réaction mesure et lire l'absorbance de la plaque à 450 nm.

Le contrôle qualité est vérifié et validé pour les résultats suivants:

- ❖ Si la DO de blanc qui contient uniquement le substrat (chromogène A et B) et la solution d'arrêt, doit être inférieur à **0.080** à 450 nm.
 - ❖ Si la DO de contrôle positif doit être supérieur ou égale à **0.800** à 450 nm.
 - ❖ Si la DO de contrôle négatif doit être inférieur à **0.100** à 450 nm.
- Calculer la valeur de seuil (V_s) par la relation suivante :

$$V_s = \text{la moyenne de contrôles négatifs} + 0.12$$

- ✓ Si la V_s inférieur à la DO de l'échantillon cela signifie l'absence d'infection.
- ✓ Si la V_s supérieur à la DO de l'échantillon cela signifie contamination confirmer.

5.3 LE DIAGNOSTIC DE VIH

- 1) *Matériel le mêmes*
- 2) *Réactif même sauf*

Sérum de Contrôle négatif

Sérum humain dilué et testé ne réagit pas avec les anticorps anti-VIH.
Stable pendant un mois à 2-8°C.

Sérum-1 de contrôle positif (VIH-1)

Anticorps anti-VIH dilué en protéines stabilisées tampon Stable pendant un mois à 2-8°C.

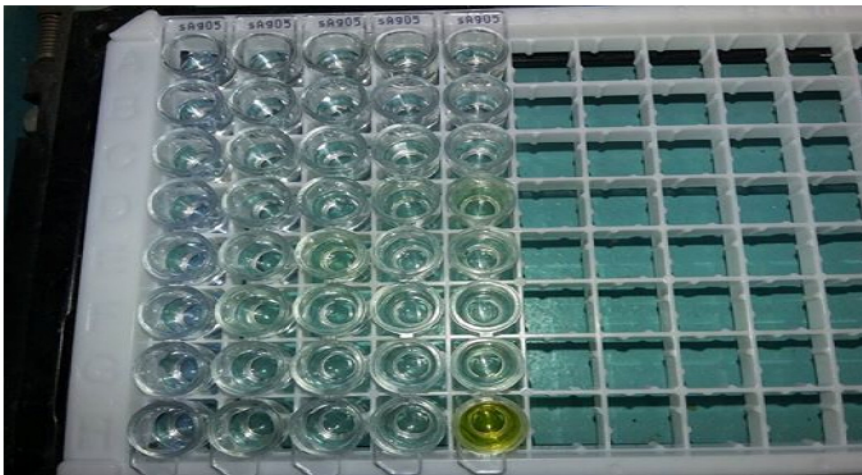
Sérum-2 de contrôle positif (VIH-2)

Anticorps anti-VIH dilué en protéines stabilisées tampon Stable pendant un mois à 2-8°C.

3) Méthode

- Préparer le nombre des barattes nécessaires (selon le nombre d'échantillon)
 - 3 puits pour le contrôle négatif
 - 1 puits pour le contrôle positif
 - 1 pour le blanc
- Déposer 100µl de contrôle négatif et de contrôle positif et l'échantillon dans leurs puits respectifs.
- Couvrir la plaque et incubé pendant 30 minutes à 37 °C, dans un incubateur sec thermostat pour assurer la stabilité et l'humidité la température.
- Après l'incubation sortir la plaque, puis laver cinq fois chaque puits avec la solution de lavage dilué.
- Ajouter 100 µl HRP conjugué à chaque puits, sauf le blanc.
- Couvrir la plaque et incubé pendant 30 minutes à 37 °C, dans un incubateur sec thermostat pour assurer la stabilité et l'humidité la température.
- Après l'incubation sortir la plaque, puis laver cinq fois chaque puits avec la solution de lavage dilué.
- Délivrer 50 µl de chromogène A et B dans chaque puits, y compris le blanc.
- mélanger en tapotant la plaque doucement.

- Incuber la plaque pendant 15 min à 37 °C, en évitant la lumière de la réaction enzymatique entre les solutions de chromogènes A / B qui produit la couleur bleu dans le contrôle positif.
- Après l'incubation, ajouter 50 µl de solution d'arrêt dans chaque puits qui produit la couleur jaune dans le contrôle positif
- mélanger en tapotant doucement la plaque.
- Cinq minutes après l'arrêt de la réaction mesure et lire l'absorbance de la plaque à 450 nm.



Le contrôle qualité est vérifié et validé pour les résultats suivants:

- ❖ Si la DO de blanc qui contient uniquement le substrat (chromogène A et B) et la solution d'arrêt, doit être inférieur à **0.080** à 450 nm.
 - ❖ Si la DO de contrôle positif doit être supérieur ou égale à **0.800** à 450 nm.
 - ❖ Si la DO de contrôle négatif doit être inférieur à **0.100** à 450 nm.
- Calculer la valeur de seuil (V_s) par la relation suivante :

$$V_s = \text{la moyenne de contrôles négatifs} + 0.12$$

- ✓ Si la Vs inférieur à la DO de l'échantillon cela signifie absence d'infection.
- ✓ Si la Vs supérieur à la DO de l'échantillon cela signifie contamination confirmer.

5.4 LE DIAGNOSTIC DE LA SYPHILIS

1) Matériels

- Centrifugeuse de paillasse réglé à la vitesse de (2000Tours/minutes), adaptable aux tubes à 5-10ml.
- Micropipette réglable: monoclonal (20-100µl)
- Les embouts jaunes (0-100µl) pour micropipettes
- Portoir pour des tubes de 5-10ml
- Micro Plaque en U non fournie dans le kit
- Conteneur pour déchets
- Gants en latex
- Gaze hydrophile
- Désinfectant : eau de javel
- Papier absorbant

2) Réactifs

Cellules Test

Hématies aviaires stabilisées et sensibilisées avec des antigènes *T. pallidum* (Nichols), pH 7,2.

Cellules Contrôle

Suspension d'hématies aviaires stabilisées, pH 7,2

Diluant Tampon phosphate

Extrait *T.pallidum* , pH 7,2

Contrôle positive

Sérum humain immunisé pré dilué au 1:20

Contrôle négative

Sérum animal

NB : Les réactifs doivent être conservés à une température de +4°C.

3) Méthode

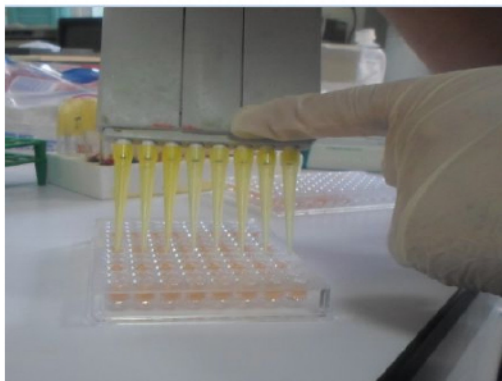
❖ Chaque échantillon est préparé sur 3 puits de la microplaque :



○ Dans le puits n°1 :

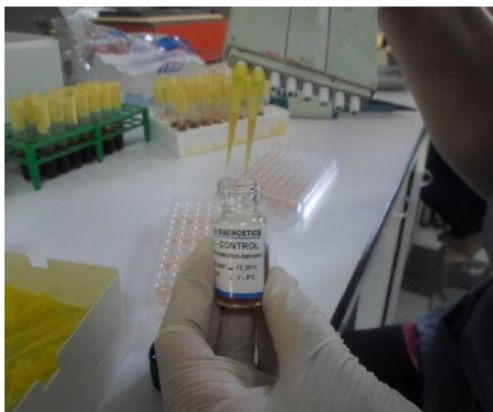
Diluer le sérum à tester au 1 :20 par :

- Déposer 190 μ l de tampon de dilution.
- Ajouter 10 μ l de sérum à tester et mélanger.



❖ Déposer 25 μ l de sérum dilué, le contrôle négatif et de contrôle positif dans les puits n°2 et n°3.

❖ Mélanger les flacons de cellules tests et cellules contrôles avant l'utilisation.



○ Dans le puits n°2 :

Déposer 75 μ l de cellules contrôles.



- dans le puits n°3 :

Déposer 75 µl de cellules tests



- ❖ Agiter doucement la plaque pour mélanger parfaitement les réactifs.

- ❖ Incuber 45 à 60 minutes à température ambiante, en évitant la lumière, chauffage et toute source de vibration.
- ❖ Faire la lecture à l'œil nu.

RESULTATS DE HBV – HCV – HIV

Après une comparaison entre les cupules qui comportent des sérums du donneur avec les réactifs des contrôles positifs et négatifs.

a) Résultats négatif

Pour les cupules ne possédant aucune coloration cela signifie l'absence antigène HBs (ou anticorps anti-HCV ou anticorps anti HIV-1 et 2).

L'absence de la couleur indique qu'il n'y a pas une formation du complexe Ag-Ac et donc le substrat ne réagira pas avec la peroxydase.

b) Résultats positif

Pour les cupules possédant la couleur jaune identique à celle des réactifs de contrôles positif cela signifie la présence antigène HBs (ou anticorps anti-HCV ou anticorps anti HIV-1 et 2).

Cette couleur jaune résulte d'une réaction entre l'enzyme peroxydase et le substrat, la réaction nécessite une formation précoce d'un complexe Ag-AC sur lequel le substrat se joint au complexe et va réagir avec la peroxydase.

RESULTAT DE LA SYPHILIS

a) Résultat négatif

- une absence d'hémagglutination, est caractérisée par une sédimentation des hématies au fond du tube, en donnant un aspect de bouton rouge, présentant quelque fois une zone claire au centre.

b) Résultat positif

- Une forte hémagglutination apparaît comme un voile lisse, diffus, de cellule au fond de la cupule.
- Une hémagglutination moins forte est caractérisée par un voile moins diffus et entouré par un cercle de globules rouges. Cet aspect peut être considéré comme douteux.

CONDUITE A TENIR

a) Résultats négatif

Le sang dont la sérologie est négatif (l'absence d'antigène HBs, anticorps anti-HCV et anticorps anti HIV-1 et 2 et anticorps anti-tréponémique). Donc on peut entamer la production des PSL (préparation conditionnement distribution).

b) Résultats positif

- Pour le malade: prise en charge médicale et psychologique et orienté vers les services spécialisés.

- Pour le sang infecté (sérologie), ce dernier est incinéré grâce à un appareil utilisé pour la destruction des déchets hospitaliers (déchets d'activité de sang)

Remarque :

Elisa C'est une méthode simple, sensible, spécifique, rapide, destinée au dépistage des grandes séries de prélèvements. L'existence de quelques rares faux positifs, tout résultat positif devra être confirmé par répétition de méthode 3 fois.

1. STRATEGIE DE PREPARATION ET D'UTILISATION DES PRODUITS SANGUINS LABILES (PSL)

1.1. OBJECTIF

Les PSL sont des produits préparés à partir de sang de donateurs bénévoles.

Ses produits sont les globules rouges, le plasma frais congelé, les plaquettes et beaucoup plus rarement les globules blancs. Ils sont rigoureusement contrôlés et répondent à des normes obligatoires de sécurité et de qualité : information et sélection des donateurs, tests de dépistage obligatoires sur chaque don, règles pour garantir la qualité sur toute la chaîne depuis le donneur jusqu'au receveur[63].

1.2. LE DONNEUR

Les ressources humaines sont l'élément le plus précieux dans l'organisation de la transfusion sanguine et en particulier les donateurs bénévoles réguliers.

- Les personnes volontaires se présentent spontanément pour donner leur sang.
- Systématiquement chaque donneur doit avoir une consultation avec un médecin du service[64].

1.2.1. INTERROGATOIRE ET EXAMEN CLINIQUE DU DONNEUR ET LES CRITERES D'EXCLUSION

- ✓ Prévention d'une mauvaise tolérance liée au volume prélevé.
- ✓ Poids corporel inférieur à **50 kg** (pour un don de sang total, le volume prélevé doit être inférieur à 13% du volume sanguin total). Pression artérielle systolique inférieure à **110 mm Hg** ou supérieure ou égale à **160mmHg** Pression artérielle diastolique supérieure ou égale à **100mmHg** Fréquence cardiaque inférieure à **50 pulsations /min** ou supérieure à **100 pulsations/minute**.
- ✓ L'âge de donneur supérieure à **70 ans**
- ✓ Coloration cutanéomuqueuse
- ✓ En cas de grossesse, allaitement, menstruation
- ✓ Notion d'amaigrissement
- ✓ En cas d'acte chirurgical : subi ou prévu

- ✓ En cas de maladie cardio-vasculaire
- ✓ En cas de maladie neurologique et infectieuse.
- ✓ En cas de prise de médicaments tels que: aspirine, antibiotiques.
- ✓ Contrôle sanitaire des voyageurs de retour d'une zone reconnue endémique pour l'une de ces maladies.
- ✓ Dans les cas où le personne a un tatouage, scarification, perçage de la peau, toxicomane par voie intra veineuse.
- ✓ Les personnes droguées[65].

1.2.2. PRELEVEMENT

Les prélèvements de sang se font par une ponction veineuse aux niveaux de la veine centrale sur le bras gauche ou droite, à la fin de prélèvement le sang prélevé passe directement dans des poches de **500 ml**. Un échantillon de ce sang prélevé (**10ml**) pour subir des analyses (groupage et sérologie).

Tout prélèvement biologique doit être effectué dans un lieu :

- Permettant de préserver la confidentialité
- Permettant d'assurer le confort du donneur
- Disposant d'un point d'eau[65].

1.2.3. CONDITION DU PRELEVEMENT

- Le prélèvement doit être réalisé avec du matériel stérile à usage unique.
- Identité du donneur de sang (nom, prénom, sexe, date et lieu de naissance, adresse personnelle, N° téléphone)
- Le volume maximal prélevé à chaque don est de 08 ml/Kg sans dépasser un volume total de **500 ml**.
- La fréquence des dons de sang total ne doit pas être supérieure à 5 fois par an pour les hommes et 3 fois par an pour les femmes.
- Toutefois entre soixante et soixante-cinq ans, le nombre de prélèvements annuels chez les hommes et chez les femmes ne peut être supérieur à trois.
- L'intervalle entre deux dons est au moins égale à 8 semaines.

- Chaque prélèvement est obligatoirement précédé d'un examen médical du donneur comportant un entretien et un examen clinique sommaire :
 - Appréciation de l'état général.
 - Mesure de la tension artérielle et de la masse corporelle du donneur.
- Au cours du prélèvement de sang total, il est indispensable de vérifier à intervalles réguliers, le débit, d'agiter la poche et d'en contrôler la masse.
- La durée maximale du prélèvement ne doit pas être supérieure à 10 minutes.
- En cas de prélèvement d'une durée supérieure à **10 min**, il ne doit aucun cas servir à préparer un concentré plaquettaire.
- Le prélèvement des tubes échantillons se fait à partir du bras du donneur. Ils ne doivent pas être étiquetés avant le prélèvement mais pendant le déroulement de celui-ci.
- Après le prélèvement, le donneur doit rester sous surveillance pendant **10 min** minimum.
- Une unité de sang de **500 ml** peut être prélevée chaque semaine au cours des **35 jours** précédant l'intervention. La dernière unité est prélevée **72 heures** avant l'intervention permettant ainsi d'obtenir un maximum de 05 unités de sang autologue [65].

1.2.4. MATERIEL DE PRELEVEMENT

- Garrot.
- Aiguilles à usage unique obligatoire.
- Solution antiseptique (alcool chirurgicale).
- Poche à sang.
- Tubes secs sans anticoagulant.
- Agitateurs pour poche à sang (pour éviter la création des caillots si le sang n'est pas bien mélangé avec l'anticoagulant.
- Clampeuse électrique ou pince et clips.
- Coton.
- Pansements.
- Conteneur pour déchets.

Nb : les poches à sang est une poche en plastique stérile, double ou triple à usage unique, contenant une solution anticoagulante et de conservation Citrate Phosphate Dextrose Adénine (*CPDA*).

Cette solution contient habituellement du :

Citrate de sodium : Se lie aux ions calcium dans le sang par échange avec le sel de sodium, ce qui empêche le sang de coaguler.

Phosphate : Soutient le métabolisme des globules rouges pendant le stockage de façon qu'ils libèrent facilement leur oxygène au niveau des tissus.

Dextrose : Préserve la paroi des globules rouges pour augmenter la durée de conservation.

Adénine : Apporte une source d'énergie (Fonctions de la solution anticoagulante et de conservation ajoutée dans les poches de sang)[65].



Figure 15 : prélèvement du sang total

1.2.5. METHODE DU PRELEVEMENT

Une fois arrivé à l'établissement de transfusion sanguine, le donneur passe à la consultation médicale. Le donneur de sang déclaré apte pour le don de sang, se présente au prélèvement muni d'une fiche d'identification et d'étiquette adhésives portant le même numéro que la fiche d'identification.

Pendant le prélèvement il faut respecter les étapes suivantes :

- ❖ Retirer les poches de l'emballage et vérifier la qualité du contenant et du contenu.
- ❖ Vérifier l'identité du donneur.

- ❖ Apposer les étiquettes autocollantes sur chaque poche et chaque tube pilote au moment du prélèvement.
- ❖ Placer le garrot au-dessus du pli du coude.
- ❖ Aseptiser la peau au niveau du pli du coude (alcool à **90°**) en s'assurant de l'absence de lésion ou de mycose à ce niveau.
- ❖ Clamper la tubulure avec une pince Kocher juste au-dessus de l'aiguille pour éviter l'entrée d'air.
- ❖ Dégainer l'aiguille et piquer franchement la veine au niveau de l'avant-bras/pli du coude.
- ❖ Le volume maximal prélevé à chaque don est de **08 ml/Kg** sans dépasser un volume total de **500 ml**.
- ❖ Enlever le clip et laisser couler le sang dans la poche placée sur un agitateur à la main jusqu'à son remplissage.
- ❖ Prendre une pince à bord plats et stripper la tubulure sur 10cm environ en remontant du nœud (vers l'aiguille) pour libérer la poche.
- ❖ A partir de la tubulure strippée remplir les tubes pilotes.
- ❖ Enlever le garrot.
- ❖ Retirer l'aiguille de la veine en appliquant un tampon de coton sur le point de pique.
- ❖ Agiter par plusieurs retournements le tube contenant l'anticoagulant.
- ❖ Poser un bandage sur le bras.
- ❖ Récupérer la poche et placer à + **4°C**.
- ❖ Récupérer et adresser les tubes pilotes respectivement en immuno-hématologie pour le prélèvement sur anticoagulant et en sérologie pour le prélèvement sur tube sec.
- ❖ Enregistrer le n° de ce don sur le registre en apposant à côté l'étiquette correspondante.
- ❖ Enregistrer ce don sur une liasse composée de plusieurs folios et qui circulera entre les unités de validation, l'unité de distribution et le secrétariat des donneurs [54].

1.2.6. IDENTIFICATION DES PRELEVEMENTS

L'identification des prélèvements se fait par l'apposition d'étiquette mentionnant le numéro du don en clair et assurant l'identification du donneur ou du patient. Elle doit permettre une lecture facile.

L'identification doit être réalisée par la personne effectuant le prélèvement immédiatement sur la poche et les tubes échantillons correspondants en vérifiant cette identité auprès du donneur[54].

1.2.7. ACHEMINEMENT ET CONTROLE DES TUBES ECHANTILLONS AVANT ANALYSE

Les tubes doivent être bouchés hermétiquement et déposés en position verticale dans des portoirs appropriés régulièrement nettoyés et désinfectés.

Les portoirs sont accompagnés d'un document mentionnant le nombre de tubes d'échantillons à soumettre aux analyses. Ce nombre doit correspondre au nombre de donneurs prélevés.

La température de conservation des échantillons pendant le transport doit être respecté (entre $2-10^{\circ}\text{C}$)[54].

1.2.8. CENTRIFUGATION

- La centrifugation doit être effectuée avec les tubes bouchés.
- Les conditions de centrifugation doivent être définies :
 - ✓ Vitesse moyenne : **2000 tr/ min**
 - ✓ Temps : **au moins 10 min**
 - ✓ Température moyenne **22 °C**
- L'ouverture des tubes doit être effectuée en respectant les conditions d'hygiène et de sécurité du personnel
- Les bouchons ne doivent pas être réutilisés et seront éliminés dans des conteneurs adaptés.
- Toutes les analyses doivent être faites à partir du tube primaire dans les six heures qui suivent le prélèvement si ce délai est dépassé transférer le sérum dans un ou plusieurs autres tubes correctement étiquetés.
- Les échantillons **hémolysés** et hyperlipémiques doivent être **éliminés**[54].

1.2.9. CONDITIONS DE CONSERVATION

▪ Avant analyse

- Les analyses doivent être effectuées le plus rapidement possible après le prélèvement.
- Lorsque l'analyse est différée d'une demi-journée la conservation des échantillons doit être faite à une température comprise entre **2-8°C**.
- Ils seront remis à une température ambiante avant analyse.
- Les analyses doivent être effectuées dans un délai maximal de quatre jours après le prélèvement.

▪ Après analyse

- Après réalisation des analyses les tubes doivent être conservés à une température comprise entre **2-8°C** durant un temps de quatre jours en moyenne.
- L'idéal est de pouvoir conserver tous les échantillons (positifs ou négatifs) pendant une durée indéterminée.
- Les échantillons positifs seront correctement bouchés et placés dans conteneur solide en vue de leurs incinérations.
- Les échantillons douteux seront conservés à **4°C** pour le culot de globule rouge et **-80°C** pour plasma frais congelé[54].

1.2.10. DEVENIR DE LA POCHE DE SANG TOTALE

Contrôler que la poche de sang à utiliser est bien celle qui est destinée au patient (compatibilité donneur - receveur).

Pour les poches conservées au réfrigérateur, contrôler toujours la date de péremption. La durée de conservation est de **35 jours** sans le citrate phosphate dextrose et les poches avec CPD (citrate phosphate dextrose) comme anticoagulant la durée de conservation est de **42 jours**[66].

1.3. GROUPAGE

Il existe deux techniques couramment utilisées pour déterminer les groupes sanguins.

1^{er} méthode : BETH-VINCENT

L'étude des **hématies** qui consiste à rechercher les antigènes érythrocytaires A et B avec les réactifs : anti A, anti B et anti A+B[71].

2^{ème} méthode :SIMONIN

L'étude de **plasma** qui consiste à rechercher des anticorps anti A et anti B avec des hématies tests A1, A2 et B ; en cas de nécessité, cette étude peut se faire à partir du sérum[65].

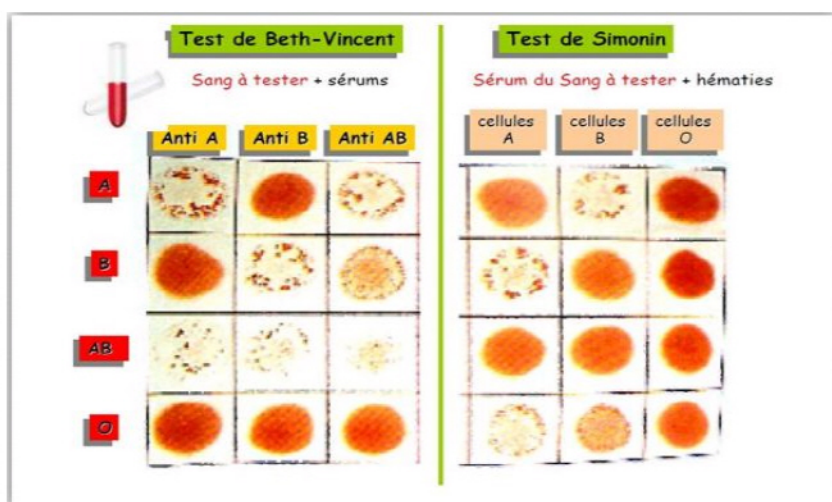


Figure 16 : Techniques utilisées pour la détermination des groupes sanguins

Le système ABO avec les différentes possibilités d'utilisation des différents groupes sanguin.

- ✓ Le groupe O peut recevoir du sang de groupe O uniquement
- ✓ Le groupe A peut recevoir du sang de groupe O et A
- ✓ Le groupe B peut recevoir du sang de groupe O et B
- ✓ Le groupe AB peut recevoir du sang de groupe O, A, B et AB [65].

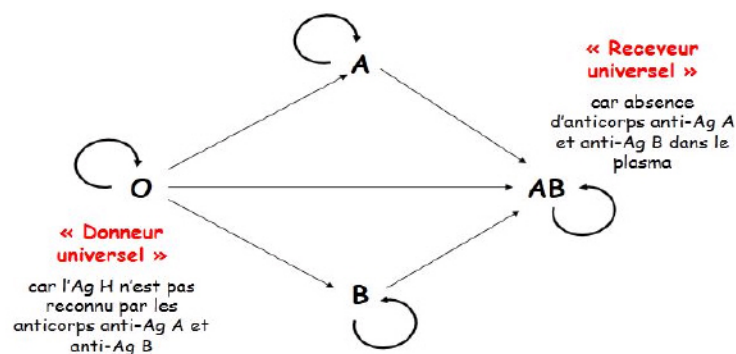


Figure 17 : Schéma résume les différentes règles du système ABO

1.4. PREPARATION DES PRODUITS SANGUINS LABILES

Les méthodes de préparation des produits sanguins labiles issus d'un prélèvement de sang total.

1.4.1. CULOT DE GLOBULE ROUGE

Nécessite un équipement spécial (centrifuges, extracteurs de plasma,...) afin de soustraire le plasma du sang total. Son volume est de plus ou moins **200 ml**. Il suffit simplement de maintenir la poche en position verticale pendant **24 heures** au frigo pour permettre aux éléments figurés de sédimenter au bas de la poche, puis soustraire le plasma surnageant. On peut également à la banque de sang conserver la poche de sang suspendue par sa base, puis, en évitant soigneusement de mélanger les composants sanguins ainsi séparés, transfuser le contenu de la poche jusqu'à ce que le plasma arrive dans la chambre du goutte à goutte de la tubulure de transfusion [67].

La conservation de culot de globule rouge nécessite une température comprise entre **2 - 8°C** et cela pendant **35 jours** au maximum si l'on dispose des poches multiples avec appendice pour l'adénine. Au cas où l'on n'en dispose pas, il suffirait lors de l'extraction du plasma de prendre soins de garder environ **50 ml** de plasma dans la poche pour pouvoir assurer une conservation de **35 jours**.

- Toujours respecter les règles de compatibilité ABO entre le donneur et le receveur[67].



Figure 18 : Séparation du globule rouge

1.4.2. PLAQUETTES

Les plaquettes sont obtenues par centrifugation (2000tr/10min) du plasma. Après la séparation du plasma et des plaquettes. Ces derniers sont agités en permanence au moyen d'un agitateur spécial dans une pièce.

Les plaquettes doivent être maintenues à une température comprise entre **20-22 °C** sous agitation afin de maintenir la fonction plaquettaire. En raison du risque de prolifération bactérienne, la durée de stockage est limitée à **3 ou 5 jours**, selon le type de poche de sang utilisé[68].

Les plaquettes ne peuvent être préparées qu'à partir d'un sang compatible avec celui du receveur, dépourvu de toute infection[67].



Figure 19 :Centrifugation du plasma

1.4.3. PLASMA

Le plasma est un sous-produit de la préparation des concentrés érythrocytaires. Le plasma perd les facteurs de coagulation (VIII et IX). Si la préparation a été faite plus de six heures après le prélèvement.

La conservation se fait :

- soit par réfrigération entre **2 - 8°C** pendant **35 jours** au maximum faisant suite au prélèvement (système fermé)
- soit le mieux par congélation à **-80°C** pendant un **an**[67].

- ***Plasma frais congelé***

Le plasma frais congelé (PFC) est du plasma qui a été provient d'un prélèvement par aphérèse ou par centrifugation du sang total et qui a été congelé rapidement dans les 24 heures suivant le prélèvement et maintenu en permanence à -80°C[69].

Une unité de sang total fournit environ 250 ml de plasma. Il contient tous les facteurs y compris les facteurs VIII et IX[67].



Figure 20 : Plasma frais congelé

1.5. UTILISATION DE PRODUITS SANGUINES LABILES

Les plus grands consommateurs des PSL en Algérie sont les services de chirurgie qui utilisent 15.8% de l'ensemble des produits sanguins labiles distribués en Algérie suivis des services d'hématologie (15.3%) et des urgences médicochirurgicales (13.2%)

Les services de pédiatrie de médecine interne et de gynécologie obstétrique ont des consommations sensiblement similaires avoisinant les 13%

Les services d'hémodialyse sont aussi des grands consommateurs des PSL (9% des PSL distribuées)[70].

1.5.1. CULOT DE GLOBULE ROUGE

Dans toute transfusion de globules rouges, il doit y avoir compatibilité ABO entre les globules rouges du donneur et le plasma du receveur.

La plupart des transfusions sont réalisées chez des prématurés dans un état grave :

- Pour remplacer le volume de sang prélevé pour les analyses.
- Pour traiter l'hypotension et l'hypo volémie.
- Pour traiter les effets combinés de l'anémie due à la prématurité et des pertes de sang dues aux prélèvements.

Les concentrés de globules rouges sont indiqués dans le traitement de l'anémie, qu'elle soit d'origine médicale, chirurgicale ou obstétricale, lorsqu'elle entraîne un défaut d'oxygénation des organes risquant de provoquer des dommages irréversibles.

Il est indispensable que la température maximale de stockage ne dépasse pas **8 °C** afin de réduire au minimum le développement de toute contamination bactérienne dans l'unité de sang.

Les globules rouges doivent être perfusés dans les 30 minutes qui suivent leur sortie du réfrigérateur[71].

1.5.2. PLAQUETTES

On utilise les plaquettes lors des certains pathologies (leucémie, aplasie médullaire...) ou de traitements lourds empêchant la fabrication de cellules sanguines par la moelle osseuse (chimiothérapie, radiothérapie...).

La transfusion régulière de plaquettes permet alors d'éviter les risques d'hémorragies mettant en jeu la vie des malades. (Pour donner ses plaquettes il faut être majeur et avoir entre 18 et 65 ans)[68].

1.5.3. PLASMA

On utilise le plasma chez les polytraumatisés, les grands brûlés, les hémophiles, les patients souffrant de troubles immunitaires graves, ont besoin de plasma. Celui-ci leur est délivré par transfusion[72-73].

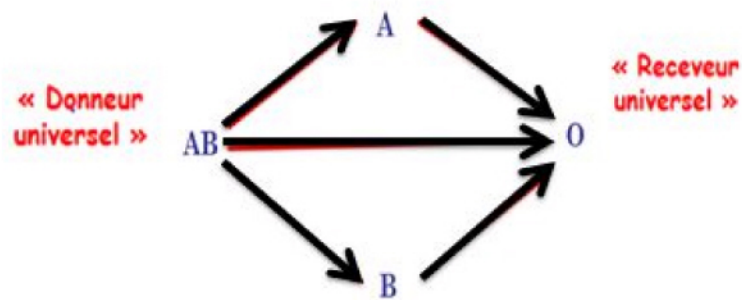


Figure 21 : Schéma résume les différentes règles du don du plasma

- **Le plasma frais congelé (PFC) pour la préparation de facteur de coagulation**

Il s'agit notamment des certains grands domaines pathologiques suivants :

- Coagulopathies graves de consommation, avec effondrement de tous les facteurs de coagulation.
- Hémorragies aiguës, avec déficit global de facteurs de coagulation.
- Déficiences complexes rares en facteurs de coagulation, lorsque les fractions coagulantes spécifiques ne sont pas disponibles.
- Déficiences complexes par défibrination. Syndromes hémorragiques du nouveau-né.

Il y a certaines situations chirurgicales sont associées à un risque hémorragique et/ou à des troubles de coagulation spécifiques ou plus fréquents. L'administration prophylactique de PFC avant la survenue du saignement ou de lacoagulopathie chez un patient ayant des concentrations normales de facteurs n'est pas indiquée[74].

1. LES DECHETS

1.1. LES DECHETS D'ACTIVITES TRANSFUSIONNELLES

Les déchets d'activités transfusionnelles sont essentiellement de deux groupes :

1.1.1. DECHETS INFECTIEUX

Ce sont les déchets contenant des micro-organismes (bactériens ou viraux) ou leurs toxines susceptibles de causer la maladie chez l'homme ou chez d'autres organismes vivants. Ils sont de trois types :

a. Déchets de type A

Ce sont les pansements et compresses souillés le matériel de protection sacs et tubes ayant servi à la transfusion sanguine les blouses et textiles souillés ainsi que les déchets de chambres de malades isolés atteints de maladies infectieuses contagieuses.

b. Déchets de type B (tous les déchets infectieux des laboratoires).

Ce sont tous les déchets contenant de fortes concentrations de germes pathogènes tels que les cultures microbiennes ou de micro-organismes viraux ou leurs toxines les milieux biologiques les cadavres d'animaux de laboratoire et d'autres déchets pathologiques infectieux.

c. Déchets de type C (déchets coupants ou tranchants)

Ce sont tous les matériaux coupants, piquants ou tranchants souillés destinés à l'abandon tels que les aiguilles seringues, lames et lamelles, pinces, scalpels et bistouris, et ou autre matériel clinique jetable pouvant causer des blessures ou coupures ayant été ou non contaminé.

1.1.2. DECHETS TOXIQUES

a. Déchets de types A

Ces sont les résidus des produits pharmaceutiques et chimiques dans leurs emballages internes ainsi que les médicaments primaires ou non utilisés et les petites quantités de produits cliniques primaires avec leurs emballages internes.

b. Déchets de types B

Ce sont les déchets contenant de fortes concentrations de métaux lourds.

c. Déchets de types C

Ce sont les acides, huiles usagées et les solvants.

1.2. COLLECTE DE DECHETS

Ces déchets, à l'exception des déchets infectieux de type A, doivent être pré-collectés dans des sachets plastiques de 0.1 mm d'épaisseur, à usage unique, de couleur rouge, résistants et solide et ne dégageant pas de chlore lors de l'incinération.

1.3. STOCKAGE DES DECHETS

La durée de stockage des déchets avant leur enlèvement pour traitement, ne doit pas dépasser 24 heures.

Le regroupement et l'entreposage des déchets sur des aires extérieures, situées en dehors de l'enceinte de l'établissement de santé, sont interdits.

1.4. TRANSPORT DES DECHETS

L'emballage, le marquage et le transport des déchets sont soumis aux dispositions de la réglementation en vigueur.

Les conteneurs ayant servi à la collecte et au transport des déchets sont obligatoirement soumis au nettoyage et à la décontamination d'une manière régulière.

1.5. L'INCINERATION

Les déchets appartenant au groupe 1 (déchet infectieux) doivent être incinérés.

CONCLUSION

Un don de sang est un processus par lequel un donneur de sang est volontaire, bénévole et gratuit. Ce don du sang implique le respect de contraintes biologiques, immunologiques, médicales mais aussi réglementaires.

La qualification biologique du don a pour but essentiel de distribuer des produits sanguins indemnes de tout agent pathogène connu et d'informer le donneur en cas de dépistage positif. Elle se positionne dans la chaîne transfusionnelle à deux niveaux : organisationnel et sécuritaire. Au cours des dernières décennies, la qualification biologique du don a significativement contribué à l'amélioration de la sécurité transfusionnelle, grâce à la mise en place de nouveaux tests de dépistage de plus en plus sensibles et spécifiques a pour but de rechercher les anticorps. Ces anticorps sont recherchés par des tests immunoenzymatiques (ELISA). De nombreux tests réglementaires dont les bonnes pratiques transfusionnelles décrivent l'organisation et les obligations des laboratoires de qualification biologique du don, qui réalisent les mêmes analyses obligatoires définies dans le code de la Santé publique. La qualification biologique du don participe ainsi au sein de la chaîne transfusionnelle, à la sécurité transfusionnelle des receveurs, tant sur le plan immuno-hématologique que sur celui de la prévention de la contamination par les agents transmissibles par le sang, tout en gardant à l'esprit le respect du donneur et de son don, par l'utilisation de réactifs sélectionnés et de méthodes maîtrisées.

L'amélioration permanente de la qualité inscrit ainsi la veille scientifique et technique au cœur des préoccupations de l'activité de qualification biologique du don[75].

RESUME

La transfusion sanguine est un acte médical qui a pour but d'apporter au malade qui en a besoin du sang ou des dérivés du sang afin de corriger une défaillance induite par sa carence. C'est une thérapeutique essentielle où l'on recourt principalement aux produits d'origine humaine (sang ou ses dérivés)

La sécurité transfusionnelle quant à elle est l'ensemble des mesures visant à éliminer les risques liés à la transfusion. La sécurité transfusionnelle concerne toutes les étapes de la chaîne de transfusion qui va du donneur au receveur et à son suivi post-transfusionnel. Elle repose sur les différentes stratégies qui vont de la sélection du donneur à l'utilisation rationnelle des produits sanguins.

La sécurité transfusionnelle suppose l'atteinte de certains objectifs tels que la protection du receveur en lui épargnant les risques liés à la transfusion sanguine, la protection des donneurs de sang et la gestion rationnelle des unités de sang disponibles.

Pour atteindre ces objectifs, il est impérieux de développer un système de recrutement des donneurs sur base des principes éthiques comme le bénévolat et le volontariat.

Le système à mettre en place devrait avoir pour finalité un programme de fidélisation des donneurs qui permettra d'avoir du sang sûr, en quantité suffisante, auprès des donneurs sélectionnés pour garantir leur sécurité et celle des receveurs.

Pour garantir la solidité du système, la protection du donneur et du receveur, les services de transfusion doivent avoir un programme solide et cohérent de formation et l'encadrement les différentes intervenant de la filière (donneur-receveur) qui va avec le renforcement des capacités et la performance de l'agence national du sang.

ABSTRACT

Blood transfusion is a medical procedure whose purpose is to bring the patient who needs blood or blood products to correct a defect induced by its deficiency. This is an essential therapy which use is mainly for products of human origin (blood or its derivatives).

Transfusion safety is a set of measures designed to eliminate the risks associated with transfusion. Blood safety concerns all stages of the transfusion chain from donor to recipient and his post-transfusion tracking. It relies on different strategies ranging from donor selection to the rational use of blood products.

Transfusion safety implies the achievement of certain objectives such as the protection of the recipient sparing him the risks associated with blood transfusion, protection of blood donors, and the rational management of blood units available.

To achieve these objectives, it is imperative to develop a donor recruitment system based on ethical principles such as volunteering and volunteerism.

The system set up should be conducted for a donor loyalty program that will have safe blood in sufficient quantities, among selected donors to ensure their safety and that of the recipients.

To ensure the robustness of the system, protection of the donor and recipient, blood services must have a strong and coherent program of training and mentoring the various intervening in the sector (donor-recipient) that goes with capacity building and the performance of the national blood agency.

REFERENCES

Références

- [1] Recommandations de l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé. août(2002). La transfusion des globules rouges homologues, produits, indications, alternatives.
- [2] Nguyen L., Ozier Y. (2010). Risques transfusionnels. *Réanimation*; 17 : 326-338.
- [3] Rouger Ph., Lefrère J. (2011). *Transfusion sanguine*. 4^{ème} édition, Masson.
- [4] Philippe Bauduin. *L'Or rouge*. (2007). *Les Alliés et la transfusion sanguine*, Normandie 44, Cheminements.
- [5] Benchehida N., Cheraitia S., Senoussaoui S., Souami K.I., Kezzal K. 27 octobre (2008). *Agence Nationale du Sang, Alger*.
- [6] Anderson D., Counihan N.A. (2011). Hepatitis A and E viruses. Versalovic J, rédacteur. *Manual of clinical microbiology*. 10^{ème} édition, Washington DC: ASM Press; p. 1430-2.
- [7] Horvat RT., Tegtmeyer G.E. (2011). Hepatitis B and D Viruses. Versalovic J, rédacteur. *Manual of clinical microbiology*. 10^{ème} édition. Washington DC: ASM Press; p. 1646-53.
- [8] Pierrick., HORDÉ. juin(2015). *Professionnels de la santé et de la médecine*.
- [9] Christian T., Philippe M., Fabien Z. (2006). *Hépatites virales B et C*, (Pour professionnels, patients et entourage), Édition, John Libbey Eurotext, Coll. : Pathologie science formation.

[10] Ryan K.J., Ray C.G. (editors), *Sherris. (2004). Medical Microbiology*, New York, McGraw Hill, 4^{ème} édition; p 541–4.

[11] Pasquier C., Bertagnoli S., Messud Petit., Izopet F.J. (2005). *virologie Humaine et animale*. Dunod. Paris ;p14-29-30-144.

[12] McMahon A.S., Chronic B.J. (2007). hepatitis B, *Hepatology*; p 45:507–39 (available at: <http://www.aasld.org/practiceguidelines/Documents/Practice%20Guidelines/chronichepBcorrection.pdf>, accessed 30 August 2008).

[13] Eugène C., Costentin L., Beaulieu S. (2004). *Les hépatites virales*, 2^{ème} édition, MASSON. (Consulté le : 30 mai 2012).

[14] Berkane S., Debzi N. 8 janvier (2012). Prise en charge de l'hépatite chronique virale en Algérie. Une conférence-débat au forum d'el Moudjahid, à la veille de la journée nationale des hépatites qui est célébrée le 12 janvier de chaque année.

[15] Beck J., Nassal M., *Gastroenterol J.* (2007). *Hepatitis B virus replication*; vol. 13, n°1; p 48–64.

[16] POL S., FONTAINE H. (2013). Hépatites virales, PDF, <http://hepatoweb.com/congres/cochin2011/FONTAINE.pdf>.

[17] Segondy M. Novembre (2005). *Hépatites Virales, Diagnostic et suivi biologique des hépatites virales*. Faculté de Médecine Montpellier-Nîmes.

[18] Trépo C., Merle P., Zoulim F. (2006). *Hépatites virales B et C, Pathologie Sciences*.

[19] Poveda J.D. février (2008). Hépatites virales b, Dépistage et suivi biologique apports des techniques de biologie moléculaire .Tunis.

[20] Legrand-abravane L.F., kamar N., Sanders S.K.(2010). Characteristics of autochthonous hepatitis E virus infection in solid-organ transplant recipients in France (archive), *J Infect Dis* ; p 202:835-844.

[21] Ryan K.J., Ray C.G. (editors). (2004). *Sherris Medical Microbiology*, New York, McGraw Hill, 4^{ème} édition. (ISBN 978-0-8385-8529-0, LCCN 2003054180) ; p 551-2.

[22] FUruso N., Hayashij., Kanamoto-Takana Y. (2000). Liver damage in hemodialysis patients with hépatite C virus vermia: a prospective 10-years study; p 45:2221-2228.

[23] Nicot F. (2010). Variabilité génétique du virus de l'hépatite C et persistance virale thèse-centre de physiopathologie de Toulouse- purpan (CPTP), INSERM U563; p 1-119.

[24] Pawlotsky J.M., lonjon I., Hezode C. (1998). What strategy should be used for diagnosis of hepatitis c virus infection in clinical laboratories hepatology; p 27: 1700-1702.

[25] Pawlotsky J.M. (2002). Le virus de l'hépatite C, Médecine/sciences, vol. 18 ; p.314-303

[26] Steinmann E. (2007). Hepatitis C virus p7 protein is crucial for assembly and release of infectious virions, *PLoS pathogens*, vol. 3, n° 7.

[27]zhengA., Yaun F., Li Y., ZHU F., Hou P., DingM., Deng H. (2007). claudin 6 and claudin-9 function as additional coreceptors for hepatitis c virus. *Journal of virology*; p 81:12465-12471.

[28]chooQ.L., Kuo G., WeinerA.J.(1989). Isolation of a DNAC clone derived from a blood-borne non-A, non B viral hepatitis genome. *Science*;p 224; 395-362.

[29]claudenicolas J.,Dény P.,Roulot D. (2002).virus de l'hépatite C.2^{ème} édition.

[30] Bruno S., Stroffolini T., Colombo M., Bollani S., Benvegnù L., MazzellaG. (2007).Italian Association of the Study of the Liver Disease (AISF).*Sustained virological response to interferon-alpha is associated with improved outcome in HCV-related cirrhosis: a retrospective study.* *Hepatology* ; p 45(3):579-87.

[31]Vaubourdolle M. (2007). Infectiologie. *Le maintenir des pharmaciens* .3^{ème} édition. ISBN ;p1036.

[32] GottliebM.S. (1981). Pneumocystis-Los Angeles.*American of journal public health*; p 96: 980-1; discussion 982-3.

[33] Pilly E. (2010). Maladies infectieuses et tropicales. Vivactis Plus.

[34] Prise en charge intégrée des maladies de l'adulte et de l'adolescent (PCIMAA). OMS/CDS/IMAI, (2004).

[35] GirardP.M, Katlama C, PialouxG. (2011). VIH. Doin.

[36] Alexandere A., Balian L., Bensoussan A., chaib G. (2009). Soria 283 – infection par le VIH (virus immunodéficience humaine) Le tout en une révision IFSI, Paris ; p 844-846.

[37] Papadopulos-Eleopulos E., Turner V.f., Papadimitriou J., Causer B. (2004). A critique of the montanier evidence for the HIV / AIDS hypothesis .*medical hypothesis*; p 63(4): 597-601.

[38] UNAIDS. HIV EPIDEMIC Update 2009 (en ligne) http://data.unaids.org/pub/report/2010/2009_annual_report_fr.pdf. Consulté le : (21-04-2013).

[39] ANDS. Pas de nouvelles infections, pas de discrimination et pas de décès lié au SIDA [en ligne] <http://news.www.ands.dz/jmsida2011.htm>. Consulté le : (22-03-2013).

[40] Gueudin M., Simon F. Septembre (2007). Advantages and limits in quantification of HIV-DNA. Comparison of proviral DNA in HIV-1 and HIV 2. *Antibiotiques*; p 9(3):199-203.

[41] Ratner R. (2010). HIV life cycle and genetic approaches. *Perspective in drug discovery and design*; p 1: 3-22.

[42] Mammano F., Labrosse B. (2010). Evolution du tropisme des populations virales dans l'histoire naturelle de l'infection par le VIH. *Virologie* ; p 11 :95-106.

[43] Saez-Cirion A., Scott-Algara D., Pancino G. (2012). Résistance au VIH-1 chez les individus exposés non infectés : la recherche des mécanismes entre lumière et zones d'ombre. *Virologie* ; p 9(1):55-63.

[44]Morrow G., VachotL., Vagenas P., Robbiani M. (2007). *current Concept of HIV Transmission*. Current HIV/AIDS Reports; p 4:29-35.

[45] Belec L.(2011). Transmission sexuelle de l'infection par le VIH. *John LibbeyEurotext*. Paris; p 654.

[46] Freed E.O. (2009). VIH-1 and the host cell: intimate association. *Trends Microbiol*; p 12:170-7.

[47] Diane D. 19 janvier (2015). Diagnostic de l'infection quantification virale résistance. desc pathologie infectieuse et tropicale.

[48] Dupin N, Ebel A ; El Ghouzi M. H ; Janier M. (2000). Diagnostic Sérologique De La Syphilis. Hôpital Saint-Vincent de Paul, Paris.

[49] Biomnis. (2012).Syphilis.Precis de biopathologie analyses médicales spécialisées.

[50] Handor N; Kabbaj H; SeffarM,Alaoui A.E. Avril(2012).Etude comparative de deux techniques de dépistage de la syphilis : NovaLisaTreponema pallidum recombinant IgG versus Treponema pallidum hemagglutinationassayTESTS.Service de bactériologie. Laboratoire de biologie, Hôpital des Spécialités de Rabat, Centre Hospitalier Ibn Sina, Rabat, Maroc. Journal de Biologie Médicale.

[51] Farhi D ; Dupin N. 10 avril (2008). Diagnostic sérologique de la syphilis. Service de dermatologie et de vénéréologie, pavillon Tarnier, hôpital Cochin, Paris, France.

[52] Chadli N ; Mrini R. (2010-2011). La sérologie de la syphilis. Sciences et Techniques : Biologie et Santé.

[53] Joffin Jean-Noël. (2013). Spirochètes borréliose syphilis. Technique et biologie.

[54] Akacem O ; Ardjoun M ; Bouguermouh A ; Ghorab T ; Hocine M ; Mohammedi D ; Tabani S. les dernier eddition de livre du precedureoperatoire en serologieinfecteuse. Agence national du sang.

[55] Blumberg B.S; ALTER H.J. (2010).Precipating antibodies against a serum protein (Australia Antigen) in the serum of transfused hemophilia patients. J Clin Invest; p 44 : 1029.

[56] Nguyen T; Desmond P; Locarnini S. (2011).The rôle of quantitative hépatites B serology in the naturalhistory and management of chronichepatitis B. HepatolInt ; 3 : S5-S15.

[57] Seeger C; Mason W.S. (2011).Hepatitis B Virus Biology.Microbiol and molecular boil rev; p 51-68.

[58] Hamdoun M ; Zahmoul, Bahri O. octobre (2010). Dosage de l'antigeneHBs : nouveau marqueur pour le suivi des hépatites virales chroniques B. Laboratoire de virologie clinique, Tunisie. p 4 :117-121.

[59] Centers for Disease Control and Prevention.*Division of Viral Hepatitis*.Interpretation of Hepatitis B Serologic Test Results.2005; p 54(No.RR-16).

[60] Bernaudin S ; chaleyssin L ; Manon E ;Ndoye M.(8/12/2014). La détection du VIH grâce au test ELISA.

- [61] Schmidt B.L; Ekijlalipour M; Luger A. (2000).Comparative evaluation of nine different enzyme-linked immunosorbent assays for determination of antibodies against *Treponemapallidum* in patients with primary syphilis.J.Clin.Microbiol; p 35-36 : 172-5.
- [62] EgglestoneS.I; TurnerA.J. (2000).Serological diagnosis of syphilis.Commun Dis Public Heath; p 3 :158-62.
- [63] Brouard C ; Valk H ; Pillonel J. 26 octobre (2011). Pour le groupe de travail Afssaps, EFS, INTS et InVS, Estimation quantitative du risque de contamination d'un don de sang par des agents infectieux. InVS, Rapport et plaquette.
- [64] Ministre de la santé de la population et de réforme hospitalière. (2001). Agence nationale de la santé. La transfusion sanguine en Algérie.
- [65] Guidoum Y. (1998). Agence Nationale du sang. Transfusion sanguine. 2^{ème} édition.
- [66] Gerard C; Sondag-Thull D; Watson-WilliamsE.J; Fransen L. (1997).Sécurité transfusionnelle dans les pays en développement. Principes et organisation. Commission Européenne, ECSC-EC-EAC, Bruxelles.
- [67] Kazadi K.R ; Vercruyse V ; Mulumba M.A. (1998). Evaluation des indications de la transfusion sanguine dans cinq structures hospitalières de Kinshasa, GTZ / Kinshasa.
- [68] Nyst M ; Ilunga N ; Rauhus G ; Nseka K. (1991). Guide pratique de la transfusion. Ministère de la Santé Publique, République du Zaïre, Kinshasa.

[69] Noryati A. ; Rama B; Boukef K; Jose C; Graham H; Shân L , Nishi M, Anadel P. (2008). Organisation mondiale de la Santé. Manuel de gestion, maintenance et utilisation du matériel de la chaîne du froid pour le sang.

[70] Genetet B ; Adreu G ; Bidet J.M. (1998). Aide-Mémoire de transfusion, Flammarion Médecine - Sciences, Paris.

[71] Hollan S.R; Wagstaff W; Leikola J; Lothe F. (1991). Gestion des services de transfusion sanguine. OMS Genève.

[72] Scheiff J.M. (1999). Hématologie. U.C.L., Cercle médical Saint Luc.

[73] Sigogneau C ; Dassier P. (1996). Abrégé théorique et pratique de la transfusion sanguine. Editions hospitalières.

[74] Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé. Aout (2002). Transfusion de plasma frais congelé : produits, indications.

[75] Boudot Olivier, coll Télémaque. (2008). Mémoires d'Hommes. *Transfusion sanguine, une grande aventure humaine.*

[76] Kerléguer A ; Morel P. Février (2012). La qualification biologique du don et la sécurité transfusionnelle. Vol 42 - N° 439 ; P. 33-41.

Référence de la figure

[1] Villeneuve JP. Les hépatites virales. *Bulletin GE informe*. Association des gastro-entérologues du Québec ; août 2010. p. 1-4.

[2] Moonnoon 2009-2015

[3] SBAI, 2012

[4] Fattovich G. Natural history and prognosis of hepatitis B. *Semin Liver Dis* 2003;23: 47-55.

[5] BAHRIO. diagnostic biologique des hépatites virales B et C au cours des hémopathies malignes. Institut pasteur de TUNIS. 2009.

[6] Mónica Anzola ; Juan José Burgos. *Expert Reviews in Molecular Medicine*: <http://www.expertreviews.org/>Accession information: Vol. 5; 19 November 2003.

[7] Amine SLIM. le génome de l'hépatite c. consulté :10/06/2015.

[8] <http://blogs.nejm.org/now/index.php/hepatitis-c-virus.infection/2013/05/17>.

[9] toony.2010

[10]<http://www.educnet.education.fr/svt/anim/ticemulhouse03/Immuno/GP120CD4/GP120CD4.htm>

[11] Sanao.National Institute of Allergy and Infectious Diseases.Processus d'attachement du VIH. [En ligne]<http://www.niaid.nih.gov/daids/dtpdb/attach.asp>.1 July 2007.

[12] Gavin E, Murphy, Jared R. Leadbetter et Grant J. Jensen, *In situ structure of the complete Treponema primitia flagellar motor* ; *Nature* 442, 1062-1064 (31 août 2006) ; 10.1038/nature05015.

[13]<file:///C:/Users/MON/Desktop/elisa/LA%20DETECTION%20DU%20VIH%20GRACE%20AU%20TEST%20ELISA%20-%20lebioblog%20imp.htm>

[14] <http://solideplayer.fr/slide/2581009/>

[15] Ayoub Lahrache. Le Centre national de transfusion sanguine. 26 août 2014.

[17] RaceR, Sanger R. *Les Groupes sanguins chez l'Homme*. Seconde édition, 2002.

[21] <http://slideplayer.fr/slide/2581010/>

ANNEXES

ANNEXE 1

- Vu la loi n 85-05 du 16 février 1985 relative à la protection et à la promotion de la santé modifiée et complétée notamment son article 158 ;
- Vu le décret présidentiel n 97-231 du 20 safar 1418 correspondant au 25 juin 1997 portant nomination des membres du gouvernement ;
- Vu le décret exécutif n 95-108 du 09 avril 1995 portant création organisation et fonctionnement de l'agence nationale de sang ;
- Vu le décret exécutif n 96-66 du 27 janvier 1996 fixant les attributions du ministre de la santé et de la population ;
- Vu l'arrêté n 220 du 07 décembre 1991 rendant obligatoire le dépistage de l'infection par le virus de l'hépatite du sida et de la syphilis dans le don du sang et d'organes ;
- Vu l'arrêté du 24 mai 1998 fixant la liste des matériels et consommables nécessaires pour le fonctionnement des structures chargées de la transfusion sanguine ;
- Vu l'arrêté du 24 mai 1998 fixant les règles régissant le don du sang et de ses composants ;
- Vu l'arrêté du 24 mai 1998 fixant les règles de bonnes pratiques des qualifications biologiques du don de sang.

ARRETE

Article 1 : pour tout don de sang et d'organes la recherche préalable des anticorps anti- VIH 1 et 2 dirigés contre le virus de l'immunodéficience humaine de l'antigèneHBs de l'anticorps de l'hépatite C et de la syphilis est obligatoire.

Article 2 : tout dépistage initial pratiqué sur chaque don pour mettre en évidence les marqueurs cités à l'article 1 donne le résultat soit positif soit négatif soit douteux

Article 3 : les résultats négatifs participent à la qualification biologique du don.

Article 4 : tout sérum positif ou douteux doit faire l'objet d'une nouvelle procédure d'analyse.

Article 5 : la conformation des sérums positif ou douteux par une structure habilitée est obligatoire.

La liste des structures habilitées est fixée par arrêté du ministre de la santé et de la population sur proposition de l'agence nationale du sang.

Article 6 : les dispositions de l'arrêté n 220 du 07 décembre 1991 susvisé sont abrogées.

Article 7 : monsieur le secrétaire général du ministère de la santé et de la population est chargé de l'application du présent arrêté.

ANNEXE 2

Article 1 : le présent arrêté a pour objet de fixer les conditions de distribution du sang et de ses dérivés labiles.

Article 2 : toute demande de produits sanguins doit être effectuée par un médecin rédigée lisiblement et comporter les indications suivantes : la date ; le nom, le prénom et l'âge du receveur.....

Article 3 : le sang est remis exclusivement à un représentant médical ou paramédical du service demandeur sur présentation de :

La demande du produit sanguin

Une double détermination du groupage sanguin du malade ou à défaut d'un prélèvement permettant de l'effectuer et éventuellement de pratiquer un test de compatibilité si nécessaire.

Article 4 : avant toute distribution de sang total ou de culot globulaire une épreuve de compatibilité est effectuée après vérification de :

La compatibilité du groupe sanguin ABO Rh D du receveur et celui des unités à comptabiliser

La compatibilité du phénotype du receveur et celui unités à comptabiliser.

ARRETE

- Vu la loi n 85-05 du 16 février 1985 relative à la protection et à la promotion de la santé modifiée et complétée notamment son article 158 ;
- Vu le décret présidentiel n 97-231 du 20 safar 1418 correspondant au 25 juin 1997 portant nomination des membres du gouvernement ;
- Vu le décret exécutif n 96-66 du 27 janvier 1996 fixant les attributions du ministre de la santé et de la population
- Vu l'arrêté du 24 mai 1998 fixant la liste des matériels et consommables nécessaires pour le fonctionnement des structures chargées de la transfusion sanguine.

ANNEXE 3

L'arrêté du 24 mai 1998 fixant le don de sang et de ses composants ;

L'arrêté du 24 mai 1998 rendant obligatoire le dépistage de l'infection par le virus du sida des hépatites B et C et de la syphilis dans le don de sang et d'organes ;

L'arrêté du 24 mai 1998 fixant les règles de bonne pratique des qualifications biologiques du don de sang ;

L'arrêté du 24 mai fixant les règles de bonnes pratiques de préparation des produits sanguins Labiles à usage thérapeutique ;

L'arrêté du 24 mai 1998 fixant les caractéristiques des produits sanguins labiles à usage thérapeutiques ;

L'arrêté du 24 mai 1998 relatif aux conditions de distribution du sang et de ses dérivés labiles ;