



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE



وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

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

جامعة الإخوة منتوري قسنطينة  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

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

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master  
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie  
Filière : Sciences Biologiques  
Spécialité : Biochimie Moléculaire et Santé

Intitulé :

*Dépistage et prévalence des maladies virales  
endémiques sur le don du sang au centre de  
transfusion sanguine  
Sidi Mabrouk Constantine*

Présenté et soutenu par :

Le : 04 /07/2016

Bousmaha Fella  
Hannache Imene

Jury d'évaluation :

Président : Mr. ZITOUNI N (MC A - UFM Constantine)  
Rapporteur : Mr. HAFI A (MC A - UFM Constantine)  
Examineurs : Mr. HAMEDCHI M.A (Professeur - UFM Constantine)

*Année universitaire  
2015/2016*

# REMERCIEMENTS

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

Nos premiers remerciements iront à notre rapporteur Monsieur **HAFI AMMAR** qui a su nous conseiller efficacement tout en nous laissant travailler librement. Pour son humanité et sa confiance, sa patience et ses remarques avisées toute notre reconnaissance lui est acquise.

Nos remerciements vont également Aux honorables membres du jury :( Monsieur **ZITOUNI NADJIB** et Monsieur **HAMEDCHI M.A**), d'avoir examiné ce mémoire et évaluer notre travail.

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

Nous remercions tous ceux qui nous ont aidés dans ce travail, surtout les techniciens de laboratoire de transfusion sanguine (CTS) à la maternité de sidi mabrouk, pour leur accueil.

**Merci a tous**

*Fella et Imene*

# *Dédicaces*

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

À mon père **DIEB**,

Décédé trop tôt, qui m'a toujours poussé et motivé dans mes études. J'espère que du monde qui est sien maintenant, il apprécie cet humble geste comme preuve de reconnaissance de la part d'une fille qui a toujours priée pour le salut de son âme. Puisse Dieu, le tout puissant, l'avoir en sa sainte miséricorde !.

À ma mère **TOURAYA**,

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

À ma grande mère : **ZAHRA**

À mes adorables sœurs : **AMIRA, NOUR EL HOUDA**

À mes tantes : **SAIDA, SAMIA, FOUZIA, LOUBNA**

Toute la famille : **BOUSMAHA**

À ma cousine : **AYET EL RAHMENE**

À mes amis : **HANENE, KHALIDA**

À tous mais amies qui ont connus.

À mon binôme **IMENE (Mimicha)** qui a partagée avec moi ce modeste travail.

À toute la promotion de master 2 biochimie moléculaire et santé.

**FELLA**

# *Dédicaces*

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

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

À mon père : **BACHIR**

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

À ma mère : **ZAKIA**

À mon frère : **MOHAMED ANIS**

À ma adorable sœur : **Wafa**

Toutes les familles : **HANNACHE et MEDOUCE**

À tous mais amies qui ont connus.

À mon binôme **FELLA** qui a partagée avec moi ce modeste travail.

À toute la Promotion de master 2 biochimie moléculaire et Santé.

**IMENE**

# Plan de travail

## INTRODUCTION

## CHAPITRE I : LE DON DU SANG

1. Historique .....	03
2. Principes éthique du don de sang .....	04
3. Le donneur du sang .....	04
4. Critères de sélection des donneurs .....	04
4.1. Accueil .....	04
4.2. Interrogatoire type et examen clinique .....	05
4.2.1. Identification du donneur de sang .....	05
4.2.2. Interrogatoire type .....	05
4.2.3. Critères d'exclusions médicales .....	06
4.2.3.a. Critères d'exclusions permanents.....	06
4.2.3.b. Critères d'exclusions temporaires.....	06
4.3. Critères d'exclusions sérologiques .....	07
5. Prélèvement.....	08
5.1. Lieu de prélèvement.....	08
5.2. Matériels de prélèvement.....	09
5.3. Protocole de prélèvement.....	10
5.4. Conditions de prélèvement.....	12
5.5. Collation et repos.....	12
6. Qualification immuno – hématologiques du don de sang.....	12
6.1. Antigènes de groupes sanguins.....	13

6.1.1	Système ABO.....	13
6.1.2	Système Rhésus (RH).....	14
6.1.3	Phénotype.....	15
6.1.4	Système Kell.....	15
6.2	Anticorps dirigés contre les cellules sanguines.....	16
6.3.	Les règles de Comptabilité.....	18
7.	La préparation des PSL.....	19
7.1.	Le concentré globulaire ou érythrocytaire.....	19
7.2.	Les plaquettes.....	21
7.3.	Plasma frais et plasma frais congelé.....	21
8.	Conservation des PSL.....	22
8.1.	Conservation du concentré de globules rouges (CGR).....	22
8.2.	Conservation du Plasma frais congelé (PFC).....	23
8.3.	Conservation des concentrés plaquettaires (CP).....	23
9.	Distribution des PSL.....	24
10.	Utilisation des PSL.....	25

## CHAPITRE II : LES MALADIES VIRALES

1.	Généralité sur les maladies virales.....	27
1.1.	Les hépatites virales.....	27
1.1.1.	Le virus de l'hépatite B (VHB).....	28
a.	Épidémiologie et répartition géographique du VHB.....	28
b.	classification VHB.....	30
c.	Structure du VHB.....	30

d. Organisation génomique du VHB.....	31
e. Cycle de réplication du VHB.....	34
1.1.2. Le virus de l'hépatite C (VHC).....	37
a. Épidémiologie et répartition géographique du VHC.....	37
b. classification VHC.....	38
c. Structure du VHC.....	38
d. Organisation génomique du VHC.....	39
e. Cycle de réplication du VHC.....	40
1.2. Le de l'immunodéficience humaine acquise (VIH/sida).....	43
a. Épidémiologie du VIH.....	43
b. Classification du VIH.....	44
c. Caractéristiques virologiques du VIH.....	45
d. Génome et propriété structurale du VIH.....	46
d.1. La structure du virus.....	46
e. infeciosité du VIH.....	47
2. Les marqueurs biologiques .....	49
2.1 Les differentes marqueurs biologiques du VHB.....	49
2.2. Les differentes marqueurs biologiques du VHC.....	49
2.3 Les differentes marqueurs biologiques du VIH.....	50

## Chapitre III : diagnostic

1. Diagnostic des maladies virales.....	51
2. la technique elisa.....	51

3. les protocoles.....	53
3.1. le diagnostic de VHB.....	53
3.2. le diagnostic de VHC.....	57
3.3. le diagnostic de VIH.....	60
4. resultas et interpretation des resultats.....	63
5. Exploitation.....	65

## chapitre IV : Enquête rétrospective

1. Matériels et méthodes.....	66
1.1. Description des populations.....	67
1.2. Organigramme des populations.....	67
1.3. Résultats.....	68
2.1. le sexe ratio.....	69
2.2. La prévalence.....	70
2.2.1. La prévalence des exclus cliniques (EX1).....	70
2.2.2. La séroprévalence des maladies virales.....	71
2.3. Analyse factorielle.....	73
2.4. Analyse factorielle des correspondances.....	74
3. Discussion.....	75
4. Conclusion.....	76

CONCLUSION

RESUME

REFERENCES

ANNEXES

## **Liste de figures :**

<b>Figure</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>01</b>	Salle de prélèvement sanguin	<b>08</b>
<b>02</b>	La poche triple a sang	<b>09</b>
<b>03</b>	Prélèvement du sang total	<b>11</b>
<b>04</b>	Techniques utilisés pour la détermination des groupes sanguins	<b>14</b>
<b>05</b>	Schéma de compatibilité dans le système rhésus	<b>15</b>
<b>06</b>	Schéma résume les différentes règles du don de plasma	<b>18</b>
<b>07</b>	Poche de sang total séparé en CGR et PRP	<b>20</b>
<b>08</b>	Des poches placées dans les presses	<b>20</b>
<b>09</b>	Centrifugation des poches de sang total	<b>20</b>
<b>10</b>	Banque de concentré de globules rouges	<b>22</b>
<b>11</b>	Plasma frais congelais	<b>23</b>
<b>12</b>	Concentrés plaquettaires	<b>24</b>
<b>13</b>	Répartition géographique du risque de contamination par l'hépatite b en 2005.	<b>29</b>
<b>14</b>	Structure du virus de l'hépatite B.	<b>30</b>

<b>15</b>	Particules virales sériques circulants du virus de l'hépatite B.	<b>31</b>
<b>16</b>	Organisation du génome du VHB et phase de lecture.	<b>32</b>
<b>17</b>	Représentation schématique de la structure de l'ADN polymérase du VHB.	<b>33</b>
<b>18</b>	Réplication du génome viral.	<b>34</b>
<b>19</b>	Représentation simplifiée du cycle de réplication du VHB.	<b>34</b>
<b>20</b>	Répartition De L'infection Par Le VHC Dans Le Monde (Oms, 1997).	<b>37</b>
<b>21</b>	Le virus de l'hépatite C.	<b>39</b>
<b>22</b>	Organisation génomique du VHC.	<b>40</b>
<b>23</b>	Cycle réplicatif du HCV.	<b>42</b>
<b>24</b>	Répartition Mondiale A La Fin 2005 Des Adultes Et Des Enfants Vivant Avec Le Vih (Onusida/Oms, 2005).	<b>44</b>
<b>25</b>	Structure du VIH.	<b>45</b>
<b>26</b>	Représentation schématique du génome du VIH-1 (patelin et trono, 2003).	<b>47</b>
<b>27</b>	Cycle de réplication du VIH.	<b>48</b>
<b>28</b>	schéma générale présente le principe de la chaine ELISA.	<b>52</b>
<b>29</b>	méthode d'ELISA indirect	<b>53</b>

<b>30</b>	lecture de la densité optique (DO)	<b>57</b>
<b>31</b>	Organigramme des déférentes populations de notre enquête	<b>67</b>
<b>32</b>	Distribution de DP1 homme et femme par Tranche d'âge en 2012	<b>69</b>
<b>33</b>	Distribution de DP1 homme et femme par Tranche d'âge en 2013	<b>69</b>
<b>34</b>	Distribution de DP1 homme et femme par Tranche d'âge en 2014	<b>69</b>
<b>35</b>	Distribution de DP1 homme et femme par Tranche d'âge en 2015	<b>69</b>
<b>36</b>	prévalence des donneurs exclus cliniques	<b>70</b>
<b>37</b>	prévalence du VHB	<b>71</b>
<b>38</b>	prévalence du VHC	<b>72</b>
<b>39</b>	La prévalence du VIH, VHB et VHC	<b>72</b>
<b>40</b>	Analyse factorielle des exclus séropositifs (2012, 2013, 2014, 2015)	<b>73</b>
<b>41</b>	Analyse Factorielle des Correspondances	<b>75</b>

## **Liste des tableaux :**

<b>Tableau</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>01</b>	caractéristiques des différents groupes sanguins.	<b>13</b>
<b>02</b>	Système ABO : phénotypes, génotypes et anticorps.	<b>16</b>
<b>03</b>	règles de compatibilité du concentré érythrocytaire .	<b>18</b>
<b>04</b>	Délivrance intra- murs des PSL en 2009.	<b>24</b>
<b>05</b>	Délivrance extra murs des PSL en 2009.	<b>25</b>
<b>06</b>	composition de KIT de « BIO-RAD » destinée au dépistage du VHB.	<b>54</b>
<b>07</b>	Réactifs de chaque puits du microplaque (protocole VHB)	<b>55</b>
<b>08</b>	composition de KIT de « BIO-RAD » destinée au dépistage du VHC.	<b>57</b>
<b>09</b>	Réactifs de chaque puits du microplaque (protocole VHC)	<b>58</b>
<b>10</b>	composition de KIT de « BIO-RAD » destinée au dépistage du VIH.	<b>50</b>
<b>11</b>	Réactifs de chaque puits du microplaque (protocole VIH)	<b>61</b>
<b>12</b>	imprimé type.	<b>66</b>
<b>13</b>	les informations de notre enquête.	<b>66</b>
<b>14</b>	Inventaire des différentes populations de l'enquête	<b>68</b>
<b>15</b>	matrice des donneurs exclus séropositifs par (HB, HC et S).	<b>74</b>

## Liste des abréviations :

<b>AA</b>	Acide Aminé
<b>Ac</b>	Anticorps.
<b>Ag</b>	Antigène.
<b>AND</b>	Acide désoxyribonucléique.
<b>ADNccc</b>	covalently closed circular DNA.
<b>ADNc</b>	AND compementaire.
<b>ARN</b>	Acide Ribonucleique.
<b>ARNm</b>	ARN messenger.
<b>Ag HBc</b>	Antigène de capsid du VHB.
<b>Ag HBe</b>	Protéine de « precore »,antigène du VHB.
<b>Ag HBs</b>	Antigène de surface.
<b>Agc</b>	Antigène de capsid.
<b>Ac anti-HBc</b>	Anticorps anti-protéine “core”.
<b>Ac anti-HBe</b>	Anticorps anti-protéine ”precore”.
<b>Ac anti-HBs</b>	Anticorps anti-protéine de surface.
<b>Ac anti-VHC</b>	Anticorps de surface du virus de l hépatite C.
<b>ANS</b>	Agence Nationale Du Sang.
<b>CHC</b>	Carcinome hépatocellulaire.
<b>CTS</b>	Centre De Transfusion Sanguine
<b>CCR-5</b>	Chemokine Cc Motif Receptor 5 Exprime Par Les Macrophages.
<b>CXCR-4</b>	Chemokine CXC Motif Receptor 4 Exprime Par Les Lymphocyte T.
<b>CD4</b>	glycoprotéine exprimée à la surface des Lymphocyte T.
<b>CPDA</b>	Citrate Phosphate Dextrose Adénine
<b>CPD</b>	Citrate Phosphate Dextrose
<b>CP</b>	concentrés plaquettaires

<b>CGR</b>	concentré de globules rouges
<b>ELISA</b>	Enzyme – Linked Immunosorbent Assay.
<b>EHS</b>	Établissement hospitalier spécialisé
<b>Gp 120, 41</b>	glycoprotéines.
<b>GAGs</b>	Glycosaminoglycans.
<b>GP</b>	Glycoprotéines
<b>GR</b>	Globule Rouge
<b>IgG</b>	Immunoglobulines De Type G.
<b>IgM</b>	Immunoglobulines De Type M.
<b>IRES</b>	Le site interne d'entrée des ribosomes.
<b>KDa</b>	kilo dalton.
<b>LDLR</b>	Récepteurs des lipoprotéines.
<b>MCJ</b>	Maladie Creutzfeld Jacod
<b>nm</b>	nanomètre.
<b>NS2</b>	Protéine Hydrophobe Attachée A La Membrane Cellulaire.
<b>NS3</b>	Protéine Virale.
<b>NS4A</b>	Protéine trans – membranaire cofacteur de NS3.
<b>NS4B</b>	Protéine transmembranaire responsable du réseau membranaire.
<b>NS5A</b>	Phosphoprotéine Virale.
<b>NS5B</b>	Polymérase Virale.
<b>NIH</b>	National Institutes of Health.
<b>ORF</b>	Cadre ouvertes de lecture.
<b>OMS</b>	Organisation Mondiale De La Santé.
<b>Pb</b>	Pair de base.
<b>PSL</b>	Produits Sanguins Labiles.
<b>PFC</b>	Plasma Frais Congelé.
<b>RE</b>	Réticulum Endoplasmique.

<b>RH</b>	Rhésus
<b>SAGM</b>	Saline adénine glucose mannitol
<b>TLR</b>	Toll like receptor.
<b>VHA</b>	Virus de l'hépatite A.
<b>VHB</b>	Virus de l'hépatite B.
<b>VHC</b>	Virus de l'hépatite C.
<b>VHE</b>	Virus de l'hépatite E.
<b>VIH</b>	Virus de l'Immunodéficience Humaine.

# **INTRODUCTION**

Le don de sang est un acte de générosité et de solidarité qui permet de sauver chaque année des milliers de vies (1). Il repose sur des bases fondamentales qui sont éthiques, médicales, réglementaires et techniques (2).

L'organisation mondiale de la santé (OMS) recommande que toutes les activités relatives à la collecte du sang, au dépistage, au traitement, au stockage et à la distribution de celui-ci soient coordonnées au niveau national grâce à une organisation efficace et à des réseaux d'approvisionnement sûrs. En Algérie, la transfusion sanguine est régie par une politique nationale qui se traduit par un programme national établi par l'Agence Nationale du Sang (ANS) sous les directives du Ministère chargé de la santé, soutenu par un cadre législatif et une réglementation permettant de garantir une sécurité optimale du sang et des produits sanguins (3).

Sur l'ensemble du territoire algérien, les structures de transfusion sanguine créées ou régularisées par l'arrêté ministériel du 09 novembre 1998 portant régularisation, création et attributions des structures de transfusion sanguine, étaient jusqu'à janvier 2006 au nombre de 152 avec 23 Centres de Transfusion Sanguine et 129 Postes de Transfusion Sanguine. On recensait également 11 autres structures exerçant une activité transfusionnelle et ne figurant pas sur l'arrêté sus cité (Quatre structures dans la région Centre, trois en région Est et quatre dans les régions Sud) (4).

L'analyse de ce dispositif transfusionnel a fait ressortir le nombre élevé de structures et une disparité des activités et pratiques transfusionnelles. Cette analyse révèle également un manque de coordination et de coopération entre les structures de transfusion sanguine situées dans une même wilaya bien qu'il y ait de nombreuses initiatives de rapprochement et d'échanges dans certaines zones. L'exigence d'une sécurité maximale impose des mesures d'adaptation et de mise en conformité avec les bonnes pratiques transfusionnelles. La mise en œuvre de ces mesures d'adaptation nécessite un environnement approprié et concerne tous les maillons de la chaîne transfusionnelle allant de la collecte à la distribution des produits.

Les schémas territoriaux : L'objectif majeur est d'assurer la couverture des Besoins des malades et une sécurité transfusionnelle, de donner une Cohérence à l'organisation transfusionnelle et de disposer ainsi d'un réseau efficient. Il convient alors, d'augmenter le nombre de points de collecte et de distribution afin d'avoir un nombre maximum de

donneurs, ce qui permettra d'une part de mieux les fidéliser et d'autre part de pouvoir approvisionner en produits sanguins toutes les structures de soins ayant besoin de ces produits.

Dans ces schémas d'organisation il s'agit de conserver les sites de proximité pour assurer les activités de prélèvement et de distribution, ainsi que les qualifications immuno-hématologiques. Il s'agit aussi de concentrer les activités de contrôles infectieux et immuno-hématologiques des dons ainsi que les activités de préparation de produits sanguins labiles dans un nombre plus réduit de structures aptes à prendre en charge ces activités dans des conditions conformes aux exigences de sécurité transfusionnelle et de qualité comme le recommande l'Organisation Mondiale de la Santé en matière de sécurité transfusionnelle.(5)

Ce travail est structuré sur trois parties :

- La première partie est une partie théorique qui porte d'une part des généralités sur le don du sang, et d'autre part sur les pathologies virales endémiques (l'hépatite B, l'hépatite C et le VIH).
- La deuxième partie, pratique est basée sur :
  - la détermination des techniques de dépistage des Ag HBs, des anticorps anti HVC et des anticorps anti-VIH 1 et VIH 2.
  - la détermination des techniques de groupage sanguin et les problèmes de compatibilité entre donneur et receveur.
- La prévalence de l'infection de ces virus sur une population des donneurs au niveau de l'établissement hospitalier spécialisé (EHS) : gynécologie-obstétrique de la cité Sidi-Mabrouk (Constantine) ; au niveau du Laboratoire de Centre de Transfusion Sanguin (CTS).

**Partie 1 :**

**Bibliographique**

# **Chapitre I**

## **LE DON DU SANG**

# 1. Historique

La transfusion sanguine dans sa pratique actuelle a connu des cheminements divers.

- En 1628 l'Anglais Harvey découvre le principe de la circulation sanguine.

Les premières transfusions étaient de sang animal avec des résultats catastrophiques.

- En 1873 Landois et Muller démontrent que le sang humain mélangé à celui d'un animal s'agglutinait.

- En 1898 Crille de Cleveland met au point un procédé de transfusion sanguine directe de bras à bras.

- En 1900 Karl Landsteiner découvre la présence d'agglutinogènes sur les globules rouges et d'agglutinines dans le sérum. Il révèle ainsi l'incompatibilité du sang humain.

- En 1907 à la suite des travaux de Kertoen et de Schultz les groupes sanguins seront déterminés.

- En 1917 furent pratiquées les premières transfusions de sang conservé.

- En 1940 Landsteiner et Wiener découvrent le facteur rhésus.

On distingue 4 périodes dans la transfusion sanguine:

- L'époque du bras à bras: utilisant du sang total frais jusqu'en 1945 - 1950.
- L'époque du flacon: utilisation du sang total conservé et fractionnement du plasma de 1950-1965.
- L'époque de la poche plasmatique: séparation ou fractionnement physique du sang et transfusion plus sélective à partir de 1965.
- L'époque des machines : séparation in vivo des composants sanguins.

Transfusion plus rationnelle et plus efficace des produits labiles cellulaires depuis 1967 (6).

## 2. Principes éthiques du don de sang

Les règles éthiques appliquées au don de sang en Algérie relèvent de cinq principes :

- L'anonymat : le donneur et le receveur doivent rester mutuellement inconnus. Seul le centre de transfusion sanguine (CTS) connaît l'identité et les données médicales du donneur.
- Le volontariat : le donneur effectue librement son don et ne doit subir aucune contrainte entravant cette liberté.
- Le bénévolat : le don de sang est gratuit et ne peut pas être rémunéré.
- L'engagement : le donneur répond avec sincérité lors de l'entretien préalable (pré-don).
- Absence de profit financier : le sang et ses dérivés ne peuvent pas faire l'objet de profit financier.

L'application de ces règles éthiques répond au principe de non commercialisation du corps humain et conduit à ne prélever dans ce cadre que des donneurs ayant atteint leur majorité légale et disposant de toute leur responsabilité civile (7).

## 3. Le donneur du sang

L'identité du donneur doit être inconnue du receveur et réciproquement. L'état de santé du donneur doit être particulièrement contrôlé avant tout prélèvement. Un interrogatoire et un examen clinique minutieux permet de sélectionner des donneurs sains. Les sujets présentant un état pathologique ou faisant partie d'un groupe à risques de transmission de maladies infectieuses sont écartés. La fidélisation et la responsabilisation des donneurs de sang sont des étapes importantes en matière de sécurité transfusionnelle (8).

## 4. Critères de sélection des donneurs

### 4.1. Accueil du donneur

L'accueil a trois fonctions :

- La création ou la mise à jour du dossier du donneur. Celui-ci doit présenter une pièce d'identité pour que le secrétariat de CTS puisse s'occuper de son inscription

administrative. Les données enregistrées permettront de le contacter ultérieurement pour toute information relative à son don.

- L'attribution d'un numéro unique pour chaque don sur le plan national. Il sera le seul identifiant permettant de suivre la chaîne entière du don et garantissant de façon anonyme le lien entre le donneur et tous les receveurs transfusés. On l'appelle la traçabilité.
- La remise au donneur d'un questionnaire de santé à remplir. Il s'agit d'un document de préparation à l'entretien médical. Le donneur s'engage à répondre avec sincérité aux questions. Le don est un geste responsable : sa franchise est indispensable pour la totale sécurité du receveur (9).

## 4.2. Interrogatoire type et examen clinique

### 4.2.1. Identification du donneur de sang

Les informations concernant les donneurs facilitent l'élaboration des rapports des services rendus pendant une période donnée (mensuel, trimestriel ou annuel).

Ils peuvent se présenter comme suit :

- Nom
- Prénom (s)
- Sexe
- Age
- Adresse personnelle ou professionnelle
- Numéro de téléphone
- Type de donneur :
  - Régulier
  - Occasionnel
  - Premier don
  - Contre partie

### 4.2.2. Interrogatoire type. (ANNEXE 1)

L'interrogatoire type contient toutes les informations administratives et médicales concernant le donneur depuis son premier don, ainsi que toutes les données cliniques et biologiques relatives au don (10).

### 4.2.3. Critères d'exclusion cliniques

#### 4.2.3.a. Critères d'exclusion temporaires

- le jeun :  
Ne pas être à jeun, boire et manger sucré 1h à 1h30 avant le don.
- Repas riche en matières grasses :  
Eviter les matières grasses au petit déjeuner pour les collectes du matin, et à midi pour les collectes de l'après-midi
- Infections :  
Maladie virale (ex.: grippe, gastro-entérite...) : il faut attendre deux semaines après la fin des symptômes pour pouvoir donner son sang.
- Prise de médicaments (antibiotiques, corticoïdes en comprimés...) :  
Il faut respecter un délai de 14 jours après la fin du traitement.
- Soins dentaires :  
Exposition à des risques d'infection, respecter les délais donnés avant de pouvoir donner son sang : (pour un traitement d'une carie et un détartrage ; pour une intervention chirurgicale).
- Arrêt de travail en cours (11).

#### 4.2.3. b. Critères d'exclusion permanents

- Limite d'âge des donneurs :  
Avant 18 ans et après 70 ans aucun don n'est autorisé.
- Poids :  
Si le poids corporel <50 kg le donneur est refus.
- Tension artérielle(TA) :  
En revanche, le don sera refusé si la TA systolique au repos est  $\geq 130$  mm Hg ou <110 mm Hg. La TA diastolique est  $\geq 100$  mm Hg ou <70 mm Hg.
- Pouls :  
Un rythme cardiaque < 60 et >100 battements par minute (bpm).

- Coloration Cutané-Muqueuse :

Est une coloration jaune à bronze des téguments due à une augmentation de la concentration de la bilirubine plasmatique (bilirubinémie). Une augmentation de la bilirubinémie entre 12 - 26 mg/l, n'est pas détectable cliniquement.

- Les pathologies :

- Neurologiques (épilepsie)
- Infectieuses (paludisme, VIH, hépatites virales, syphilis, tuberculose ...)
- Cardiaux vasculaire
- Thérapie :( médicament, vaccin, transfusion sanguine, acupuncture)
- Gastro entérologie (ulcère gastrique)
- Antécédents de maladie Creutzfeld Jacod (MCI)

- Cas particuliers :

- Voyage dans une zone d'endémie \*:

\*L'endémie est la présence constante d'une maladie infectieuse contagieuse d'extension rapide au sein d'une certaine population dans une zone géographique limitée.

- Comportement social à risque :(tatouage, scarification, perçage de la peau, relation sexuelle avec homosexuel, toxicomane ...)
- es métiers à risque (infirmier, chercheur de laboratoire...)
- États particuliers de la femme : En cas de grossesse, d'allaitement et de menstruation (10).

### 4.3. Critères d'exclusion sérologiques

Après le prélèvement, Les échantillons sanguins recueillis dans les tubes sont soumis à des tests de dépistage de 4 maladies virales endémiques transmissibles par le sang :

- hépatite B
- hépatite C
- VIH
- syphilis

Malgré les progrès enregistrés dans les techniques de dépistage et les tests qui sont réalisés sur un sang donné, un très faible risque résiduel subsiste. Il est lié au prélèvement d'un don de sang entre le moment où une personne est infectée et le moment où la maladie est décelable : on appelle ce délai la fenêtre sérologique. C'est pourquoi l'entretien médical et la sincérité du donneur sont un complément indispensable des tests effectués par le CTS.

## 5. Le prélèvement

Après l'examen médical, Un(e) infirmier(e) spécialement formé(e) prélève le sang du candidat reconnu apte au don.

Un prélèvement sanguin par voie veineuse consiste à ponctionner une veine avec une aiguille appropriée afin de recueillir le sang veineux dans une poche à sang.

### 5.1. Lieu de prélèvement

Le prélèvement s'effectue dans un endroit calme et relaxant pour le patient avant et après le prélèvement, quel que soit le lieu de la collecte (site fixe ou site mobile) :

- \* Site fixe à l'intérieur de CTS (figure 01).
- \* Site mobile à l'extérieur de CTS via des unités mobiles qui se déplacent pour collecter du sang chez des volontaires dans différents établissements publics et privés (associations, facultés, lycées, sociétés, banques, mosquées...).

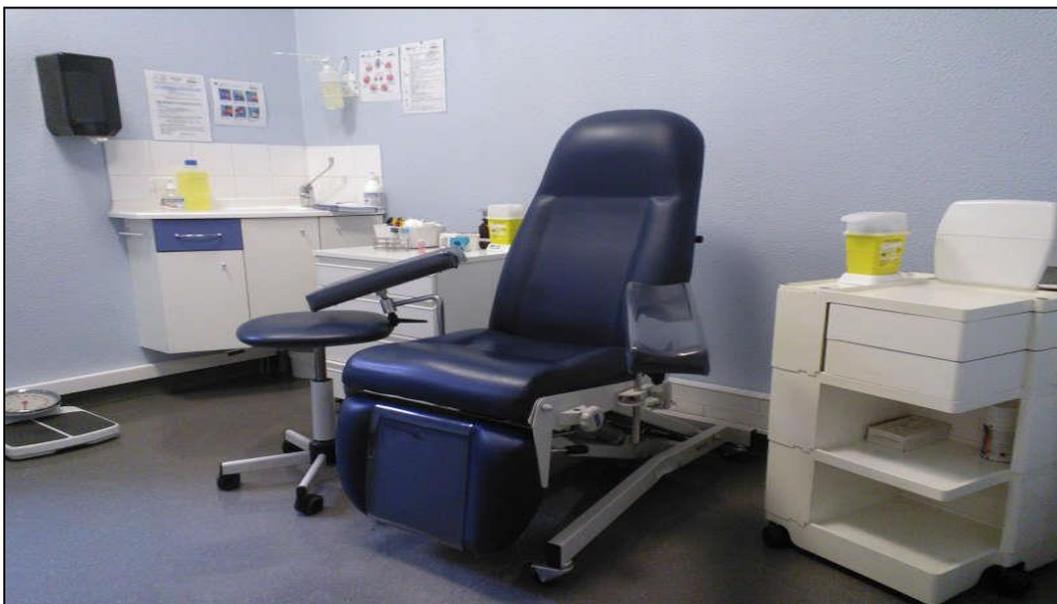


Figure 01: Salle de prélèvement sanguin.

## 5.2. Matériels de prélèvement

- Garrot.
- Aiguille stérile à usage unique.
- Solution anti septique (alcool chirurgical)
- Tube sec sans anticoagulant de 5 à 10 ml (pour les tests de sérologie)
- Tube avec anticoagulant de 5 à 10 ml (pour les tests d'immuno-hématologie)
- Agitateurs pour poche à sang
- Clampeuse électrique ou pince et clips.
- Coton.
- Pansement.
- Conteneur pour déchets.
- Poche à sang avec anticoagulant (double, triple) (figure 02).

La poche à sang est une poche en plastique stérile, à usage unique contenant une solution anticoagulante de conservation.

- Citrate Phosphate Dextrose Adénine (CPDA) ou Citrate Phosphate Dextrose (CPD) anticoagulante de la poche double.
- Citrate Phosphate Dextrose Adénine (CPDA) ou Citrate Phosphate Dextrose (CPD) plus Saline adénine glucose mannitol (SAGM) anticoagulante de la poche triple.



Figure 02: la poche triple a sang.

La solution anticoagulante contient :

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) (10).

### 5.3. Protocole de prélèvement

- \* Vérifier l'identité du donneur.
- \* Installer le donneur, Deux positions sont possibles: la position couchée et la position semi - assise.
- \* Choisir l'abord veineux (le pli du coude).
- \* Il faut bien placer le garrot à la partie inférieure du bras en évitant de le serrer très fort au risque de gêner l'écoulement du sang par blocage de la circulation artérielle.
- \* Désinfecter la peau avec l'alcool 90°.
- \* Faire un nœud non serré sur la tubulure et décapuchonner l'aiguille montée sur la poche en prenant soin de clamper la tubulure pour éviter toute entrée d'air dans la poche au risque de contaminer le sang avec les germes qui en proviendraient.
- \* Piquer à environ 2 mm de la veine et ne la prendre que sous la peau.  
En effet si l'on pique directement sur une veine qui est bien saillante, il y a risque de salir le donneur par des jets de sang qui proviendraient d'une telle piqûre.
- \* Déclamper la tubulure et immobiliser l'aiguille en utilisant du sparadrap

- \* Agiter régulièrement la poche pendant le prélèvement pour éviter la création des caillots si le sang n'est pas bien mélangé avec l'anticoagulant (Figure 03).



Figure 03: prélèvement du sang total.

- \* Dès que la poche est remplie, serrer fortement le nœud qu'on a fait sur la tubulure. Clamper la partie antérieure de la tubulure et couper celle-ci juste à côté du nœud. Placer les tubes pour le recueil des échantillons, les remplir avec du sang provenant directement de la veine.
- \* Enlever le garrot, puis enlever l'aiguille de la veine en plaçant au point de piqûre une compresse ou de l'ouate sèche.
- \* Identifier le prélèvement immédiatement sur la poche et les deux tubes des échantillons correspondants respectivement en immuno-hématologie pour le prélèvement sur anticoagulant et en sérologie infectieuse pour le prélèvement sur tube sec, l'apposition d'étiquette mentionner le numéro du don clair et facile pour la lecture.
- \* Enregistrer le numéro du don sur le registre (12).

## 5.4. Conditions de prélèvement

- Le prélèvement dure environ 12 minutes.
- Le volume maximal prélevé à chaque don est 08ml/kg sans dépasser un volume total de 450ml.
- La fréquence du don de sang total ne doit pas être supérieure à 5 fois par an pour les hommes et 3 fois par an pour les femmes.
- Entre soixante et soixante-cinq ans, le nombre de prélèvements annuels chez les hommes et les femmes ne doit pas être supérieur à trois.
- L'intervalle entre deux dons est au moins égale 8 semaines (10).

## 5.5. Collation et repos

Un temps de repos et de collation de 10 à 15 minutes est prévu après chaque don, sous l'observation des infirmières. Il est recommandé de bien respecter cette étape, en s'hydratant et en mangeant, pour permettre au sang de se reconstituer le plus rapidement possible. Il est déconseillé de pratiquer un effort physique dans les heures suivant un don de sang.

La nature de la collation est variable : sandwich, biscuit, boisson chaude ou fraîche (12).

## 6. Qualification immuno – hématologiques du don de sang

La qualification immuno – hématologiques comportent un groupage ABO et RH D (RH1) et une recherche d'anticorps anti -érythrocytaires irréguliers. Une recherche d'anticorps immuns est systématiquement réalisée chez les donneurs O. Les données immuno-hématologiques peuvent être complétées par un phénotypage standard qui comprend la détermination des antigènes du système Rh C, c, E, e et K du système Kell (RH 2, 4, 3, 5 et KEL1) ; il peut, selon les besoins, être étendu aux systèmes Duffy, Kidd, Lewis, MN Ss, P. (13).

## 6.1 Antigènes de groupes sanguins

Les cellules sanguines portent à leur surface des glycoprotéines (GP) aux rôles fonctionnels multiples (14). D'un individu à l'autre, une GP peut présenter des différences de structure reflétant les différences génétiques entre allèles codant une même protéine.

Transmises génétiquement, elles définissent les systèmes de groupes sanguins, dont l'expression observable à la surface des cellules sanguines constitue le phénotype. Les systèmes de groupes sanguins peuvent s'exprimer sur une ou plusieurs lignées cellulaires sanguines ou tissulaires. Les groupes sanguins jouent un rôle important en transfusion sanguine car les disparités sont la source d'immunisations qui sont à l'origine d'accidents transfusionnels ou d'incompatibilité foeto-maternelle. La fréquence des immunisations varie considérablement selon la fréquence des allèles et selon leur immunogénicité. Nous ne considérerons ici que les systèmes ayant un intérêt transfusionnel pour les PSL (15).

### 6.1.1. Système ABO

Le système ABO qui permet de classer les différents groupes sanguins, a été découvert en 1900 par Landsteiner.

Ces groupes sanguins sont au nombre de quatre (A, B, AB et O) et se différencient par la présence, l'absence ou la combinaison des antigènes A ou B à la surface des globules rouges (Tableau 1).

Tableau 1 : caractéristiques des différents groupes sanguins

Groupe Sanguin	Antigène sur la membrane érythrocytaire	Anticorps sérique
A	Ag A	Ac anti B
B	Ag B	Ac anti A
AB	Ag A et Ag B	Pas d'Ac
O	Pas d'Ag	Ac anti A et Ac anti B

La détermination des groupes ABO repose sur 2 épreuves réalisées simultanément, toutes les deux sont des réactions d'agglutination active directe :

➤ Épreuve de *BETH- VINCENT* (sérum tests)

Les hématies à tester sont mises en contact avec des anticorps sériques connus (anti A, anti B, anti AB) afin d'identifier les antigènes présents sur ces hématies. (Figure 4)

➤ Épreuve de *SIMONIN* (hématies tests)

Le plasma (ou le sérum) est mis en contact avec des hématies tests connues A et B afin d'identifier les anticorps anti A et anti B présents dans ce plasma. (Figure 4)

Ces deux recherches, respectivement d'antigènes (épreuve de Beth-Vincent) et d'anticorps (épreuve de Simonin-Michon) l'un est confirmé l'autre, sont obligatoires et doivent être concordantes pour établir un groupe sanguin ABO. Une exception toutefois chez le nouveau-né de moins de six mois dont les anticorps ne sont pas bien développés, et chez lequel ne sont donnés que des résultats non définitifs (16).

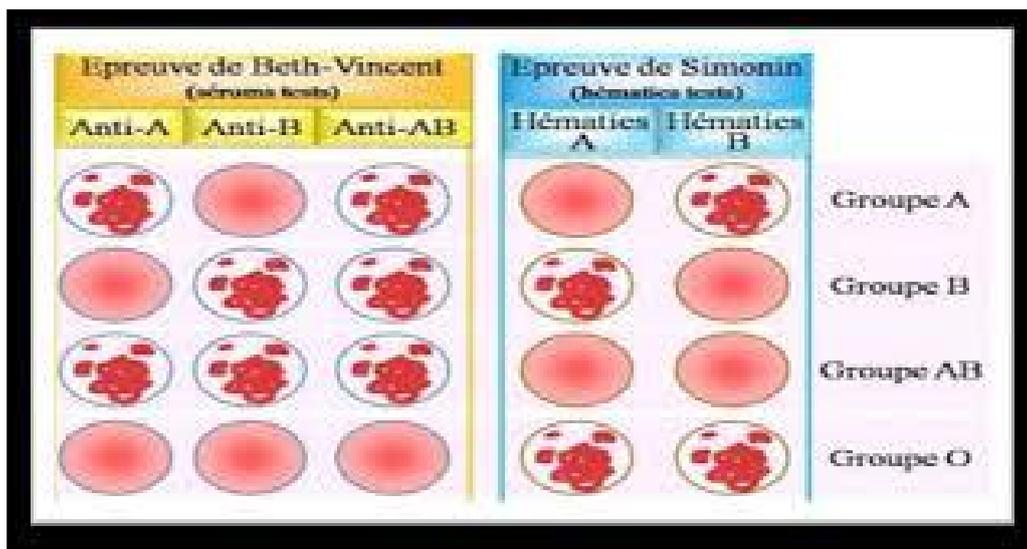


Figure 04: Techniques utilisés pour la détermination des groupes sanguins.

### 6.1.2. Système Rhésus (RH)

Il s'agit d'un test d'agglutination des globules rouges avec les sérums tests. Les sujets Rhésus positif sont ceux qui possèdent l'antigène D, les autres sont de Rhésus négatif.

Dans le système RH, le donneur universel pour la transfusion de globules rouges correspond au groupe RH-1 (communément appelé Rh négatif), qui peut être indifféremment transfusé à un sujet de groupe RH+1 (communément appelé Rh positif) ou

RH-1. En revanche, le sang d'un donneur RH+1 ne doit pas être transfusé à un patient RH-1 (17) (Figure 05) (Voir tableau 2).

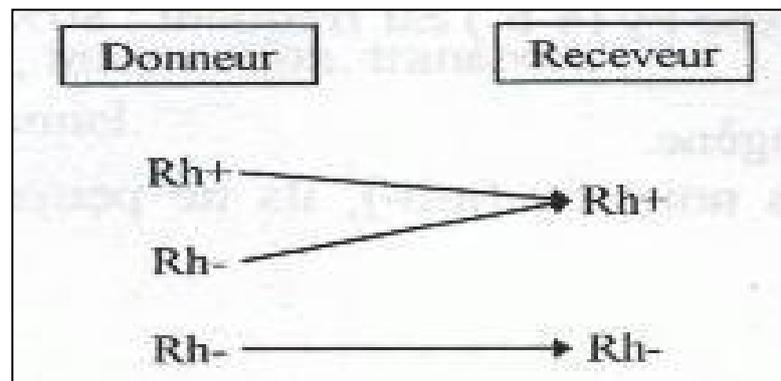


Figure 05: schéma de compatibilité dans le système rhésus.

### 6.1.3. Phénotype

Il s'applique à tous les CGR antigéno-compatibles avec le receveur pour les 5 antigènes : RH2 (C), RH3 (E), RH4 (c), RH5 (e) du système RH (Rh) et KEL1 (K) du système KELL (Kell).

Il est dit « étendu » lorsque, en plus du phénotype RH-KELL, au moins un antigène d'autres systèmes (Duffy, Kidd, MNS, Lewis, etc.) est antigéno-compatibilité avec le receveur.

Indications des CGR déleucocytés phénotypés RH et KELL Les CGR phénotypés RH et KELL sont formellement indiqués chez :

- chez femme non ménopausée
- chez sujet polytransfusé
- avant transplantation
- en cas d'existence d'anticorps anti-érythrocytaires
- les nouveau-nés, en présence d'un anticorps anti-érythrocytaire (provenant de la mère), quel que soit le sexe. (18) (voir tableau 2)

### 6.1.4. Système Kell

- Il comporte deux antigènes principaux : K et k appelés maintenant K1 et K2. Seul l'antigène K est très immunogène, les anticorps anti-K sont des anticorps immuns irréguliers qui sont impliqués dans des accidents transfusionnels.

- On évite l'immunisation anti-K en transfusant des CGR phénotypés compatibles.
- Les anticorps anti-k, encore appelés anti-Cellano, sont exceptionnels et aucune mesure n'est prise pour prévenir leur apparition.
- Pour la transfusion sanguine, la prévention de l'alloimmunisation repose donc sur l'injection de concentrés globulaires K négatif (kk) aux sujets K négatif. L'injection de sang phénotypé respecte cette règle et elle est réglementairement obligatoire dans les mêmes circonstances que celles appliquées pour le groupe RH. (17) (voir tableau 2)

## 6.2. Anticorps dirigés contre les cellules sanguines

En fonction de leurs modalités d'apparition, ces anticorps sont classés en trois catégories :

- \* Anticorps naturels réguliers : toujours présents en l'absence de l'antigène correspondant, ils caractérisent les anticorps du système ABO ;
- \* Anticorps naturels irréguliers : présents sans allo-immunisation préalable, ils sont rares mais justifient les recherches d'agglutinines irrégulières, même sans allo-immunisation préalable ;
- \* Anticorps immuns irréguliers : apparaissant après une allo-immunisation transfusionnelle ou gravidique (15).

Tableau 2: Système ABO : phénotypes, génotypes et anticorps.

Système	Phénotype Antigénique	Génotype chromosomique	Caractéristiques
Rhésus	+ -	D/d ou D/D d/d	- grande immunogénicité de son antigène majeur, D.

	C, Cc, c, Ee, E, e	Le gène Rhésus CE porte sur la même séquence les deux déterminants antigéniques C,c et E,e	- Ces anticorps sont des IgG, qui sont dans la totalité des cas des anticorps immuns.
Kell	+ -	K/K ou K/k k/k	- composé par 4 antigènes dont l'un K a une importance transfusionnelle.  - fréquence assez élevée de l'anticorps anti-K.
Duffy	Fya, Fyb, Fyab	codominance des allèles a et b.	- L'antigène Fya est fortement immunogène.  - L'allo-immunisation par l'antigène Fya produit un anticorps de classe IgG responsable d'accidents transfusionnels et de MHNN.
Kidd	Jka, Jkb, Jkab	codominance des allèles a et b.	- Seul l'antigène Jka est incriminé qui est aussi immunisant que l'antigène Fya.  - L'anticorps anti-Jka très hémolytique et difficile à mettre en évidence

### 6.3. Les règles de Comptabilité.

- Concentré érythrocytaire :

Tableau 3: règles de compatibilité du concentré érythrocytaire

		RECEVEURS							
		O+	O-	A+	A-	B+	B-	AB+	AB-
DONNEURS	O+	●		●		●		●	
	O-	●	●	●	●	●	●	●	●
	A+			●				●	
	A-			●	●			●	●
	B+					●		●	
	B-					●	●	●	●
	AB+							●	
	AB-							●	●

RECEVEUR UNIVERSEL

DONNEUR UNIVERSEL

studio.v2

- Plasma frais congelé :

On ne tient pas compte du Rhésus pour ce type de produit

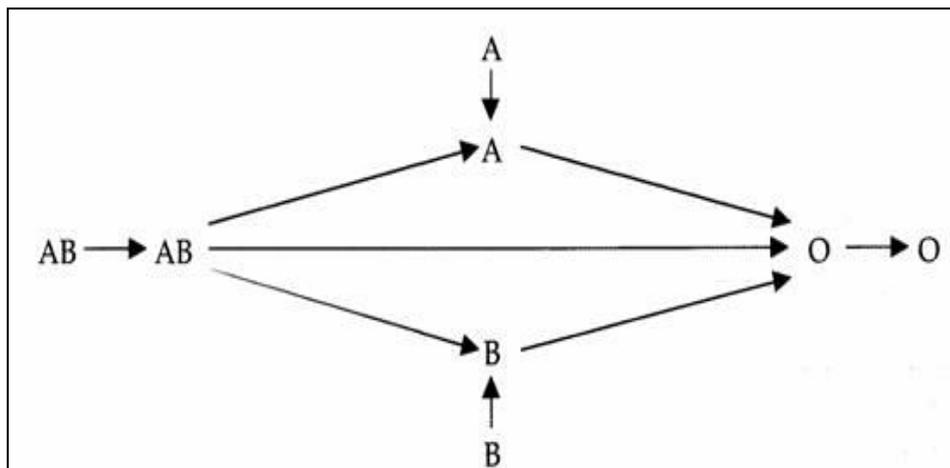


Figure 06: schéma résume les différentes règles du don de plasma

AB : «Receveur universel » car absence d'anticorps anti-Ag A et anti-Ag B dans le plasma

O : « Donneur universel » car l'Ag H n'est pas reconnu par les anticorps anti-Ag A et anti-Ag B (Figure 06).

- Concentré plaquettaire :

Pour les concentrés de plaquettes, les mêmes règles que celles de la transfusion de plasma s'appliquent ; cependant, les plaquettes expriment de faibles quantités d'antigènes ABO qui sont parfois en cause dans le mauvais rendement de certaines transfusions de plaquettes (19).

## 7. La préparation des PSL

La méthodologie de travail au sein du laboratoire de production est structurée en procédures résumant toutes les opérations subies par le sang total (matières premières) avant d'aboutir aux produits finis (CGR, PFC, CP).le grand principe étant la centrifugation différentielle et l'extraction sous pression.

### 7.1. Le concentré globulaire ou érythrocytaire

La préparation des concentrés globulaires nécessite un équipement spécial (centrifuges (Figure 9), extracteurs de plasma,...) afin de soustraire le plasma du sang total. Son volume est de plus ou moins 200 ml. Dans la pratique courante par man que d'équipements adaptés, 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 (Figure 7), puis soustraire le plasma surnageant (Figure 8). 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.



Figure 7 : Poche de sang total  
séparé en CGR et PRP



Figure 8: des poches placées  
dans les presses

### Précautions :

- Toujours respecter les règles de compatibilité ABO entre le donneur et le receveur.
- Avoir présent à l'esprit que les concentrés érythrocytaires peuvent transmettre des maladies infectieuses



Figure 9 : centrifugation des poches de sang total

## 7.2. Les plaquettes

Le nombre des plaquettes contenu dans une unité de sang est de  $(0.6 \pm 0.2) \times 10^{11}$  plaquettes. Elle diffère selon qu'on veut obtenir le concentré plaquettaire ou le plasma riche en plaquettes.

La préparation du concentré plaquettaire nécessite un équipement particulier et des poches de prélèvement très onéreuses souvent indispensables pour les centres de soins tertiaires. Pour préparer le plasma riche en plaquettes, il suffit de laisser sédimenter le sang total frais dans une poche suspendue pendant six heures, ensuite transférer le plasma surnageant dans une poche satellite (système fermé) ou dans une poche de transfert (système ouvert), puis homogénéiser par agitation douce toutes les quatre heures.

### Précautions :

Les plaquettes ne peuvent être préparées qu'à partir d'un sang compatible avec celui du receveur, dépourvu de toute infection. Les transfusions plaquettaires sont très immunogènes. Les anticorps anti-plaquettaires surtout anti-HLA doivent être recherchés systématiquement chez les femmes multipares avant toute transfusion plaquettaire.

## 7.3. Plasma frais et plasma frais congelé

C'est le liquide surnageant riche en protéines obtenu soit, par centrifugation, soit par sédimentation des globules rouges. Une unité de sang total fournit environ 250 ml de plasma. Il contient tous les facteurs y compris les facteurs V et VIII.

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

La congélation du plasma frais expose également à la perte de ces mêmes facteurs de coagulation mais toutes les protéines restent intactes (20).

## 8. Conservation des PSL

Le sang total doit être conservé à une température comprise entre +2 et +8°C. Le sang conservé ne peut-être hémolysé et ne peut contenir à température ordinaire, ni caillot ni agglutinat d'hématies. Les délais d'utilisation dépendent de la composition de la solution anticoagulante et de conservation sur laquelle a été recueilli le sang :

- S'il s'agit d'une solution citratée contenant du glucose, ce délai est de 21 jours au maximum.
- Si cette solution citratée et glucosée contient de l'Adénine, ce délai peut être porté à 35 jours au maximum.

### 8.1. Conservation du concentré de globules rouges (CGR)

Le concentré de globules rouges doit être conservé dans la banque spécifique de conservation de concentré de globule rouges (Figure 10) à une température comprise entre +2° C et +8°C.

La durée de conservation :

- Conservation 35 jours avec comme anticoagulant le Citrate phosphate dextrose adénine (CPDA).
- Conservation 21 jours avec comme anticoagulant le Citrate phosphate dextrose (CPD).
- Conservation 42 jours avec comme anticoagulant le Saline adénine glucose mannitol (SAGM).



Figure 10 : Banque de concentré de globules rouges

## 8.2. Conservation du Plasma frais congelé (PFC)

Le plasma est conservé dans la banque de conservation du plasma frais congelé (Figure 11) à une température inférieure ou égale à  $-80^{\circ}\text{C}$  pendant 12 mois au maximum après la date de prélèvement.



Figure 11 : plasma frais congelés

## 8.3. Conservation des concentrés plaquettaires (CP)

Les concentrés plaquettaires sont conservés durant 5 jours maximum entre  $20^{\circ}\text{C}$  et  $24^{\circ}\text{C}$ . Cette température garantit l'efficacité des transfusions mais augmente le risque de prolifération bactérienne durant la conservation.

Ils sont également maintenus durant la conservation à agitation légère afin de favoriser les échanges gazeux entre les cellules et l'atmosphère autour de la poche (21) (Figure 12).



Figure 12 : Agitateur des Concentrés plaquettaires

## 9. Distribution des PSL

En 2009 ; au niveau d'établissement hospitalier spécialisé (EHS) de SMK La distribution correspond au transfert :

- de PSL du plateau technique de préparation d'EHS vers les différents sites de délivrance de cet EHS. Ces transferts, quotidiens voire plus fréquents pour certains produits, font l'objet d'une régulation régionale :

Tableau 4 : Délivrance intra- murs des PSL en 2009.

Sites de Délivrances \ PSL (unité)	CGR	PFC	CP
Chirurgie pédiatrique	190	13	29
Gynéco-obstétrique	490	24	0
Hématologie	0	0	0
Pédiatrie	256	08	0
Nursery	269	23	165
BLOC+Réa	626	123	165
Urgence	0	0	0
Autre(Polytransfusé)	768	0	0

- de PSL d'EHS à un autre EHS dans le cadre de contrats de cession internes annuels ou d'échanges plus ponctuels, coordonnés par une cellule de régulation nationale qui est chargée de s'assurer de l'autosuffisance nationale en PSL et de veiller à la pertinence de ces échanges (23).

Tableau 5: Délivrance extra muros des PSL en 2009.

Établissement \ PSL	CGR	PFC	CP
EHS Daksi	11	0	0
EHS Erryadh	92	167	14
CHU	0	0	0
EHS Elbir	0	0	0
EHS Khroub	7	3	1

## 10. Utilisation des PSL

Les services les plus consommateurs de PSL en Algérie sont les services d'hématologie qui utilisent 18.32% de l'ensemble des Produits Sanguins Labiles distribués en Algérie, suivis des services de chirurgie (17.22%) et de médecine interne (15.28%). La néphro-hémodialyse reste un service utilisateur de PSL en dépit des produits de remplacement préconisés pour la dialyse (consomme 7.13% des PSL distribués). (3)

### 10.1. Indications du concentré de globules rouges

Il est indiqué dans le traitement des anémies sans hypovolémie, donc des anémies chroniques mal tolérées telles que :

- Anémies hémolytiques congénitales (la drépanocytose, la thalassémie, anomalies de la membrane érythrocytaire, enzymopathies, etc...) ;
- Anémies hémolytiques acquises (hémoglobinurie paroxystique nocturne, purpura thrombotique thrombopénique) ;
- Anémies hémolytiques auto-immunes.

## 10.2. Indications des plaquettes

- La prévention ou le traitement des hémorragies dues à des thrombopénies graves, inférieures à  $30 \times 10^9/\text{mm}^3$ , d'origine centrale : aplasie médullaire, leucémie aiguë.

## 10.3. Indications du plasma frais congelais

- Trouble de l'hémostase (plasma frais de moins de six heures).
- Déficits complexes par défibrination. Syndromes hémorragiques du nouveau-né.
- Afibrinogénémie et dysfibrinogénémie.
- Brûlures (22).

# **Chapitre II**

## **LES MALADIES**

### **VIRALES**

# 1. Généralités sur les maladies virales

Une maladie virale (ou virose) est transmise à un individu par contact avec un virus, qui s'installe dans son organisme en s'adaptant à ses défenses immunitaires pour y proliférer.

Les maladies virales sont plus ou moins graves et contagieuses. Également appelée virose, la maladie virale ne répond pas aux antibiotiques. Ce sont ses symptômes, tels que des atteintes dermatologiques, de la fièvre, des douleurs, qui sont traités pour en diminuer l'intensité jusqu'à ce que le virus ait disparu de l'organisme. Le virus se transmet par les rapports sexuels ou d'autres contacts directs (23) (24).

Dans notre travail nous allons nous intéresser aux trois maladies virales : le virus de l'hépatite B (VHB), le virus de l'hépatite C (VHC) et le virus de l'immunodéficience (VIH).

## 1.1. Les hépatites virales

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

La majorité des hépatites se résorbent spontanément, sans laisser de séquelles. Parfois, la maladie persiste plusieurs mois. Quand elle dure plus de 6 mois, elle est considérée comme chronique (25).

Les hépatites virales regroupent les infections provoquées par des virus se développant aux dépens du tissu hépatique. Les virus, une fois inoculés à l'organisme, infectent alors préférentiellement les cellules du foie aussi appelées hépatocytes.

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

Les virus des hépatites n'ont été isolés que tardivement à la fin du *xx<sup>e</sup>* siècle. On décrit les Cinq hépatites virales suivantes A, B, C, D et E.

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

-Le premier comprend les virus des hépatites A (VHA) et E (VHE) à transmission oro-fécale, évoluant par épidémies et caractérisés par l'absence d'infection chronique.

-Le second groupe inclut les virus des hépatites B (VHB), C (VHC), et D (VHD) à transmission parentérale. Ces virus sont caractérisés par le risque d'évolution vers la chronicité, la cirrhose et le carcinome hépatocellulaire (26).

### 1.1.1. Le virus de l'hépatite B

L'hépatite B est une inflammation du foie résultant d'une infection par le virus de l'hépatite B.

La notion d'hépatite B est un concept assez vaste, qui peut être utilisé de différentes manières. Cela conduit souvent à des confusions. Par conséquent, il est important que les principaux phénomènes intervenant au cours d'une infection par le virus de l'hépatite B et leurs éventuelles complications pathologiques soient bien compris et distingués les uns des autres. Selon des critères temporels stricts, on distingue une phase aiguë au début de l'infection et une phase chronique qui intervient par la suite (27).

#### a. épidémiologie et répartition géographique

L'hépatite B est l'une des maladies humaines les plus fréquentes. Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS) il y aurait 350 millions de porteurs du virus dans le monde.

La proportion de la population mondiale actuellement infectée par le virus est estimée, suivant les différentes évaluations entre 3 et 6%, mais jusqu'à un tiers de la population a déjà été exposé au virus. En 2005, environ 2 milliards de personnes étaient infectés avec plus de 350 millions de porteurs chroniques pouvant transmettre le virus pendant des années.

Ces porteurs chroniques ont un risque élevé de décéder des suites d'une cirrhose du foie ou d'un cancer du foie, ces deux maladies faisant environ un million de morts chaque année (Figure 13).

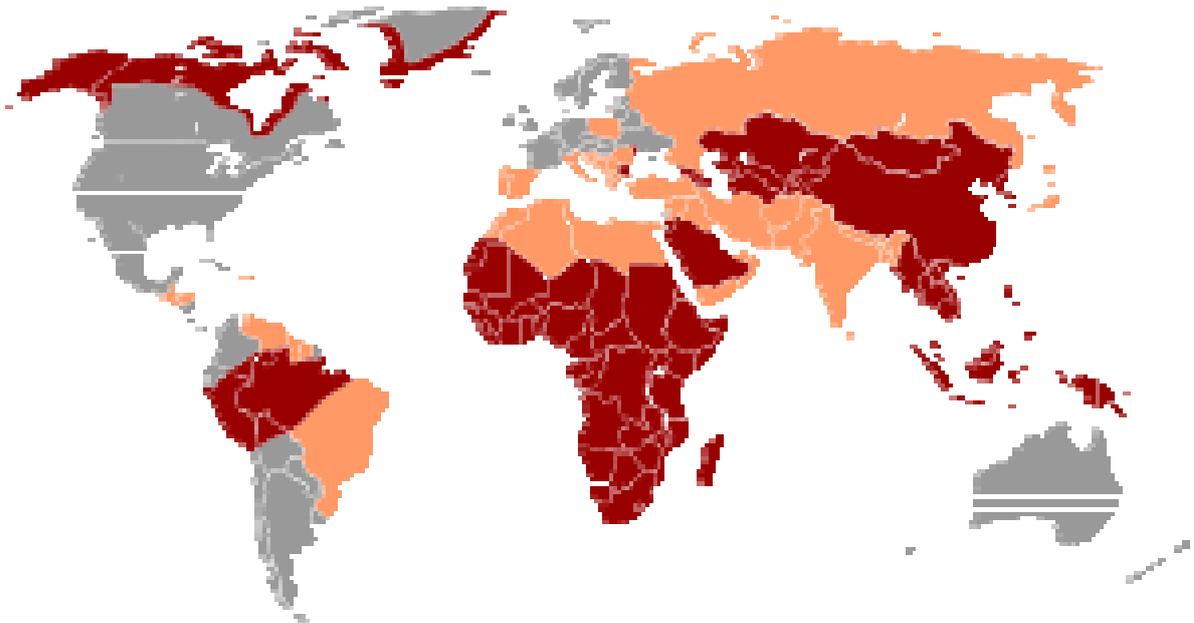
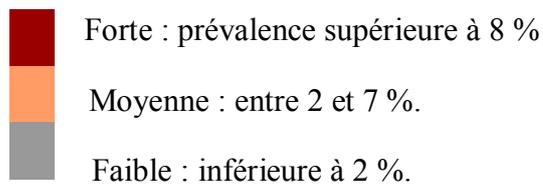


Figure 13: Répartition géographique du risque de contamination par l'hépatite B en 2005



- zones de forte prévalence : (supérieure à 8 %)
  - >50 % de la population infectée.
  - 8% de porteurs chroniques de l'Ag Hbs
  - Asie du Sud-Est, Chine, Afrique Subsaharienne.
  - Transmission neonatale.
  
- Zones de moyenne prévalence : (2 -7 %)
  - 2-7% de porteurs chroniques
  - Bassin méditerranéen, Moyen-Orient, Amérique du Sud, Europe de l'Est.
  
- Zones de faible prévalence : (inférieure à 2 %)
  - 2% de porteurs chroniques.
  - Europe de l'Ouest, Amérique du Nord, Australie.
  - Transmission à l'âge adulte (sexuelle ou parentérale) (28).

L Algérie appartient a la zone de moyenne endémicité, avec une prévalence de de l AgHbs de 2.16%, dans la population générale ,100% chez le donneur de sang ,1.8% a 2.2% chez la femme enceinte et 10.5% chez les hémodialysés. La transmission virale se fait par voie parentérale, Sexuelle et périnatale (29).

### b. Classification

Le virus de l'hépatite B (VHB en anglais : HBV) appartient a la famille des Hepadnaviridae ; au genre Orthohepadnavirus qui comprend en outre des virus animaux provoquant une maladie analogue chez leur hôte respectif (30).

### c. Structure Du VHB

Le virus de l'hépatite B possède une structure très complexe dont la connaissance est nécessaire, car le diagnostic virologique indirect repose sur l'identification des Ag correspondant aux différentes parties de sa structure (figure 14) (31).

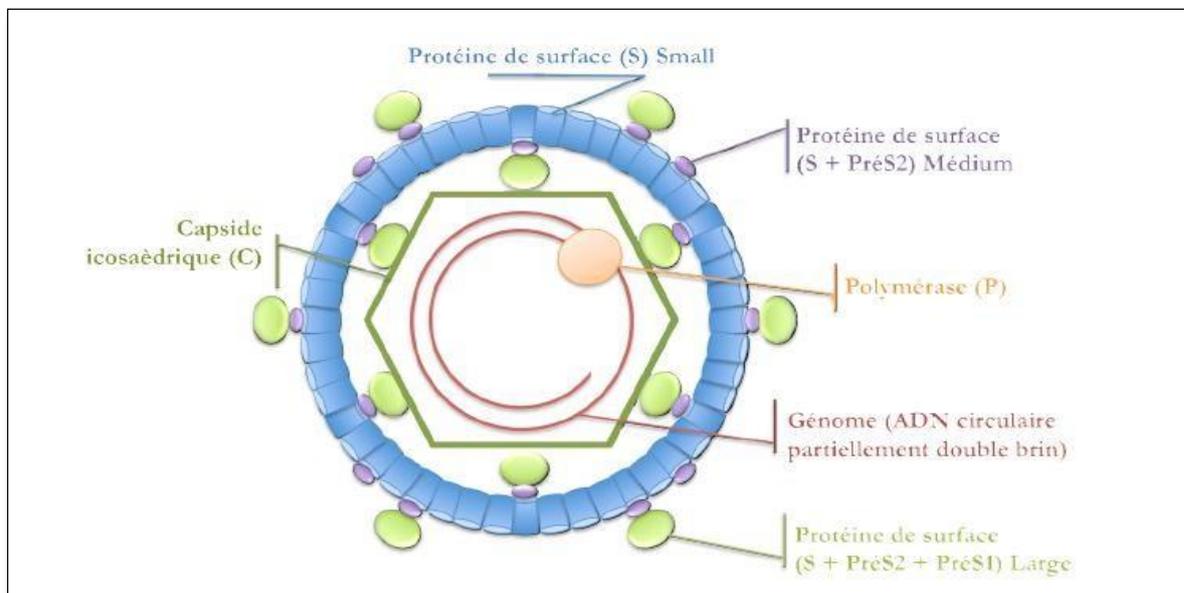


Figure 14 : Structure du virus de l'hépatite B

Le virus de l'hépatite B est une particule infectieuse que l'on trouve L'examen du sang infecté par le VHB à l'aide du microscope électronique montre l'existence des deux formes suivantes.

- 1 - Des particules virales complètes ou particules de DANE qui représente le virion complet.
- 2 - Des particules dites subvirales qui est de formes sphérique ou filamenteuse (figure 15).

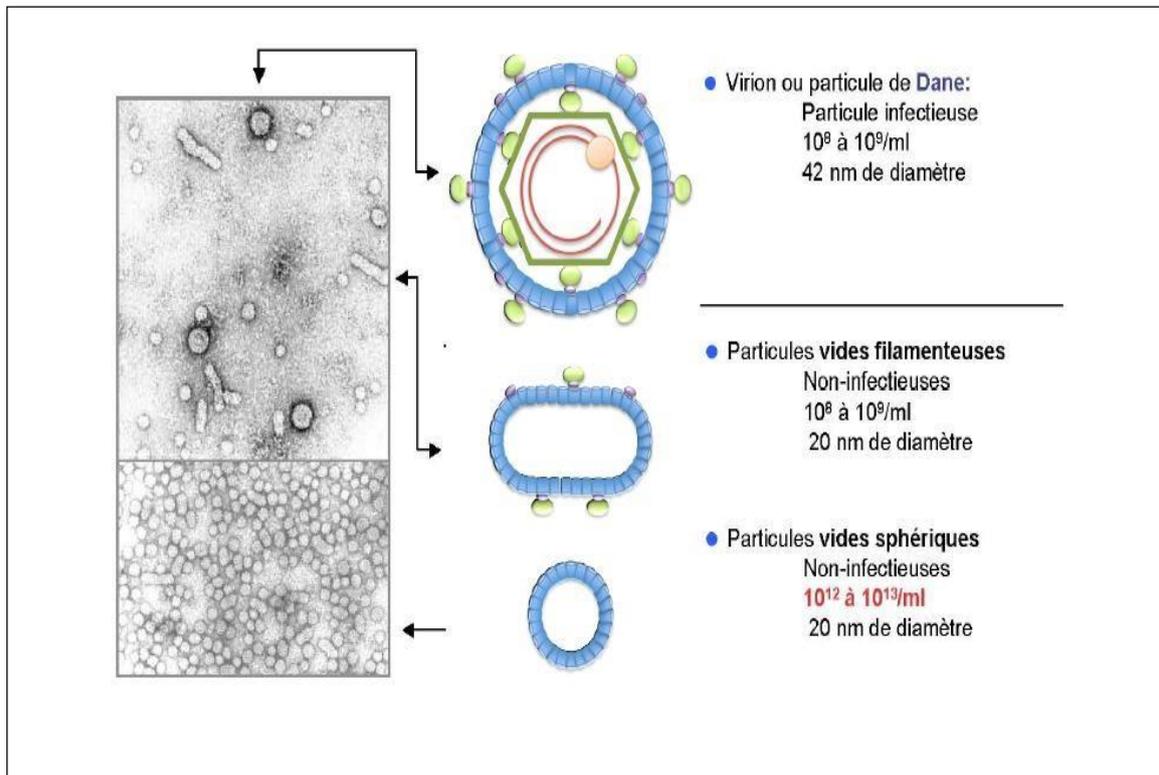


Figure 15: Particules virales sériques circulants du virus de l'hépatite B.

#### d. Organisation Génomique

Le VHB est un virus enveloppé qui possède le plus petit génome de tous les virus animaux connus. Ce génome est un acide désoxyribonucléique (ADN), de 3200 paires de bases (pb), circulaire, partiellement double brin et non fermé de manière covalente. Cette configuration circulaire est maintenue par un appariement des extrémités 5' des deux brins, de longueur différente: un brin long et complet (brin moins) qui contient la totalité du patrimoine génétique du virus et un brin incomplet (brin plus) non codant et de taille variable, allant de 50 à 80 % de la longueur du brin long. Cette structure particulière est liée au mécanisme de réplication spécifique de ce virus. Son organisation génétique est très compacte avec quatre cadres de lecture ouverts: S, C, P, et X (figure 16). (32)

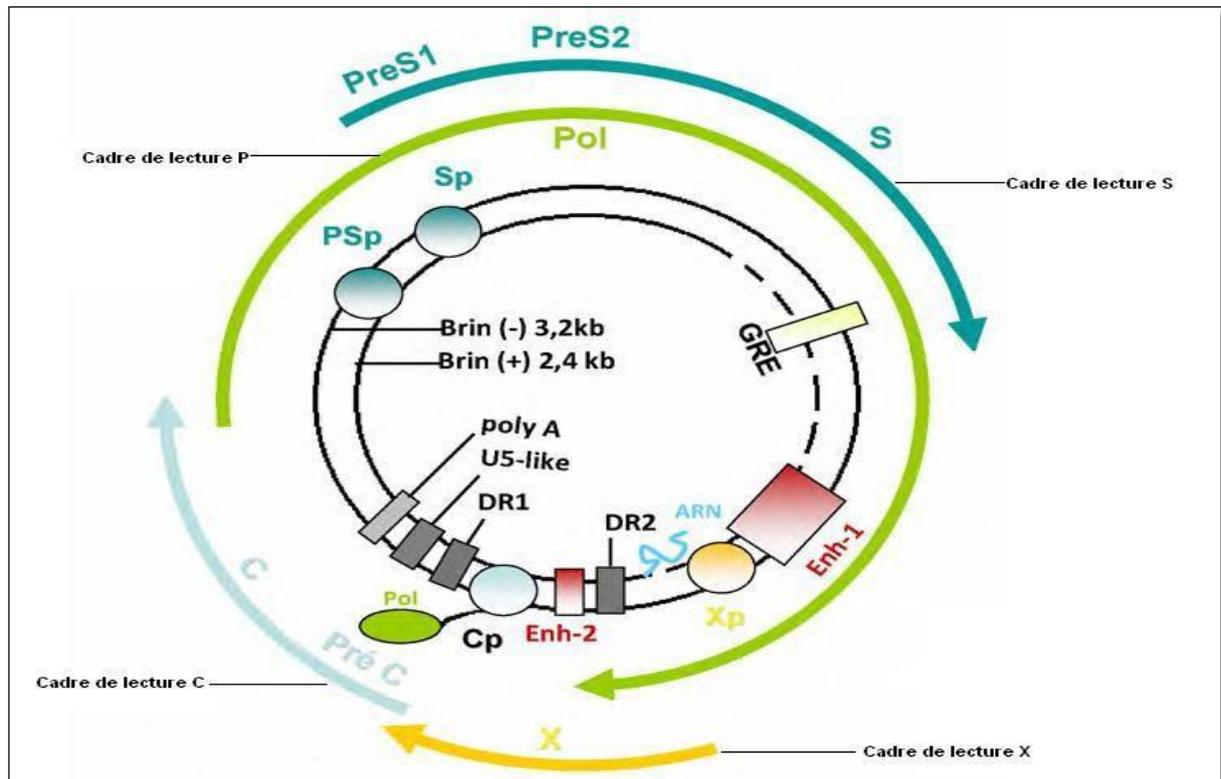


Figure 16: Organisation du génome du VHB et phase de lecture.

Le chevauchement des gènes et l'utilisation de codon d'initiation de transcription alternatifs permettent la synthèse de 7 protéines virales distinctes et expliquent la petite taille du génome du virus (32).

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

Les protéines de surface sont synthétisées largement en excès par les hépatocytes infectés, seule une faible proportion participe à la formation des nouvelles particules virales infectieuses la majorité d'entre elles formant des particules vides (33).

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

La région P : La région P code pour l'ADN polymérase virale de 82 kDa et recouvre 80 % du génome. Cette enzyme possède à la fois des activités de transcriptase inverse, d'ADN polymérase ADN-dépendante et de RNase H (figure 17).

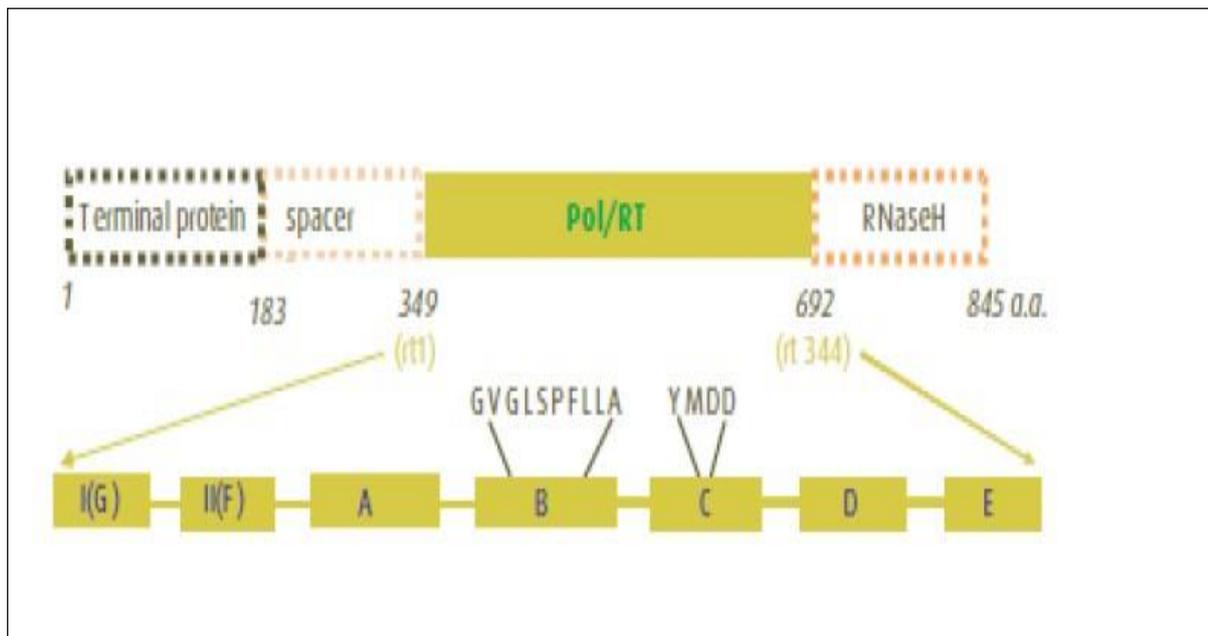


Figure 17: Représentation schématique de la structure de l'ADN polymérase du VHB.

*La région X* : Code pour un polypeptide de 145 à 154 acides aminés (dépendant du sous type du virus). Ce polypeptide X est une protéine transactivatrice du génome viral et cellulaire, et possède également un potentiel oncogénique (34).

e. Cycle de réplication du VHB

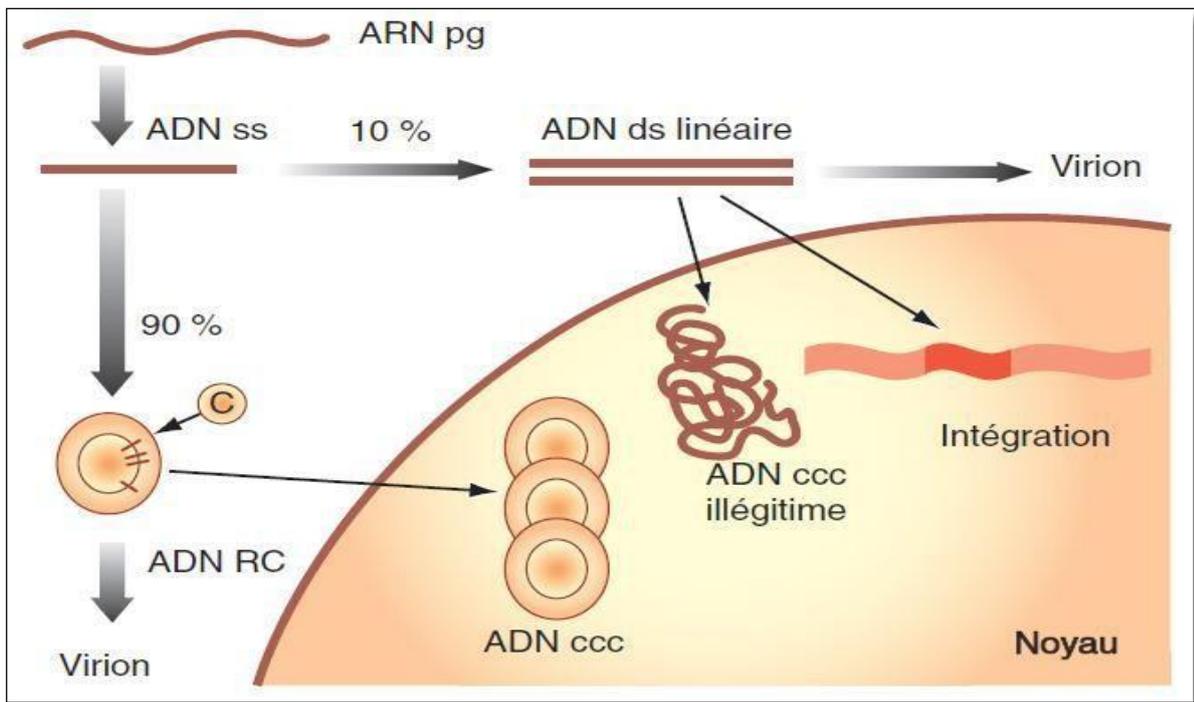


Figure 18 : Réplication du génome viral.

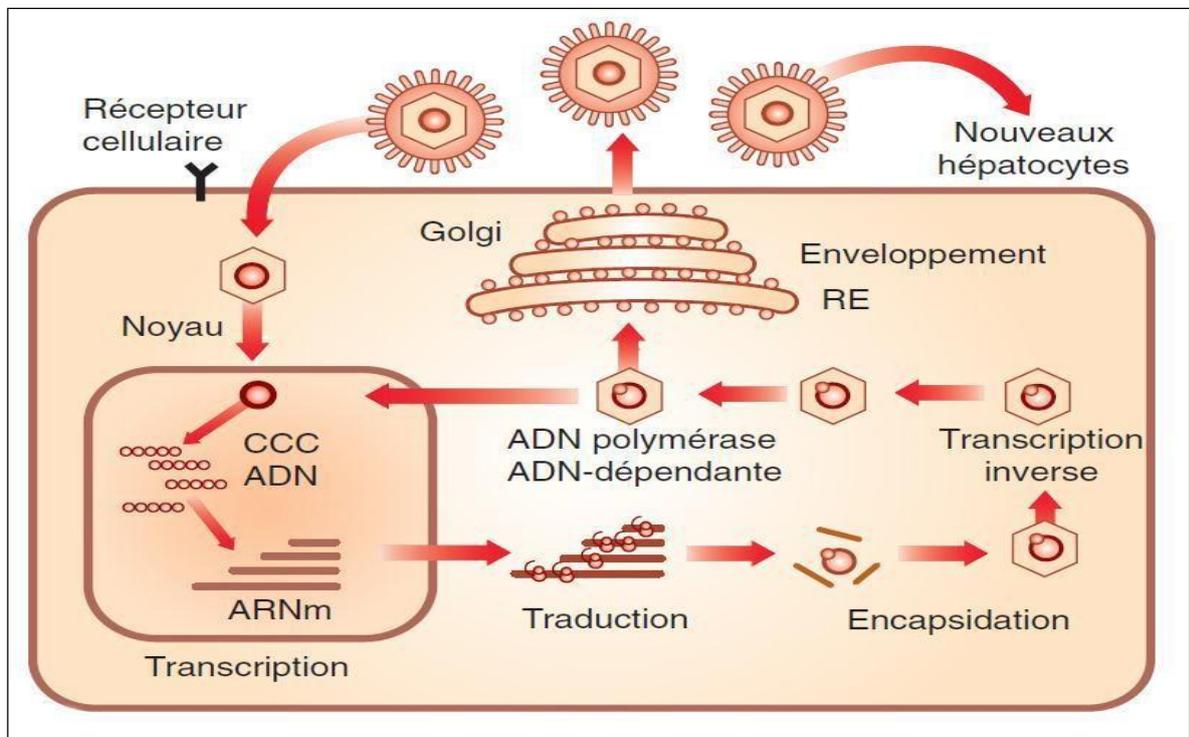


Figure 19 : représentation simplifiée du cycle de réplication du VHB.

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

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

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

2- Phase de réplication incomplète ou phase d'intégration ; au cours de laquelle l'ADN du virus s'intègre à l'ADN chromosomique hépatocytaire une recombinaison génétique est alors réalisée avec reprogrammation des hépatocytes qui deviennent capables de produire l'AgHBs. Cette phase ne s'accompagne plus de production de virion complet ni de l'expression d'AgHBe/c sur les membranes hépatocytaires donc l'infection est absente. (35)

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

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

Dans le noyau, l'ADN polymérase virale associée au virion ; complète l'ADN génomique partiellement bicaténaire en ADN bicaténaire circulaire sur-enroulé appelée ADNccc (covalently closed circular DNA). Celui-ci est transcript par l'appareillage cellulaire en ARN messagers, traduits en 4 protéines (AgHBs, AgHBc, ADN polymérase et protéine X), et en ARN pré-génomique, particularité de l'HBV, qui est rétrotranscript par l'ADN polymérase en nouvel ADN génomique. Lors de son entrée dans l'hépatocyte le virus perd son enveloppe. La capsid rejoint le noyau de l'hépatocyte et désassemble pour libérer son ADN. Dans le noyau, l'ADN polymérase virale associée au virion ; complète l'ADN génomique partiellement bicaténaire en ADN bicaténaire circulaire surenroulés appelée ADNccc. Celui-ci est transcript par l'appareillage cellulaire en ARN messagers, traduits en 4 protéines (AgHBs, AgHBc, ADN polymérase et protéine X), et en ARN pré-génomique, particularité du VHB, qui est rétrotranscript par l'ADN polymérase en nouvel ADN génomique (figure 18).

L'encapsidation s'effectue dans le cytoplasme et seul l'ARN prégénomique, associé à la polymérase P, est encapsidé car il est le seul à posséder le signal d'encapsidation. L'ARN prégénomique est copié en un ADN (-) de 3182 nucléotides, grâce à la transcriptase inverse virale. La synthèse du second brin d'ADN (+), à partir du brin néo-synthétisé s'interrompt prématurément donnant des brins courts, de tailles variables (figure 19).

La nucléocapside acquiert ensuite son enveloppe. Cette étape se passe dans un compartiment prégolgien (post-réticulum endoplasmique) correspondant au site de maturation des protéines d'enveloppe. Le virion ainsi formé par bourgeonnement de la membrane du Réticulum Endoplasmique (RE) est libéré dans la voie exocytique.

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

Le cycle de réplication des hépadnavirus fait intervenir une transcriptase inverse, qui ne possède pas d'activité 3' 5' exonucléasique et ne corrige donc pas ses erreurs de transcription. (36)

### 1.1.2. Le virus de l'hépatite C

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

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

L'existence du virus de l'hépatite C (VHC) avait été suspectée devant la persistance des hépatites post-transfusionnelles malgré la mise en place de tests sérologiques pour dépister les infections par le virus de l'hépatite B (VHB) (figure 20) (37).

#### a. Epidémiologie et répartition géographique

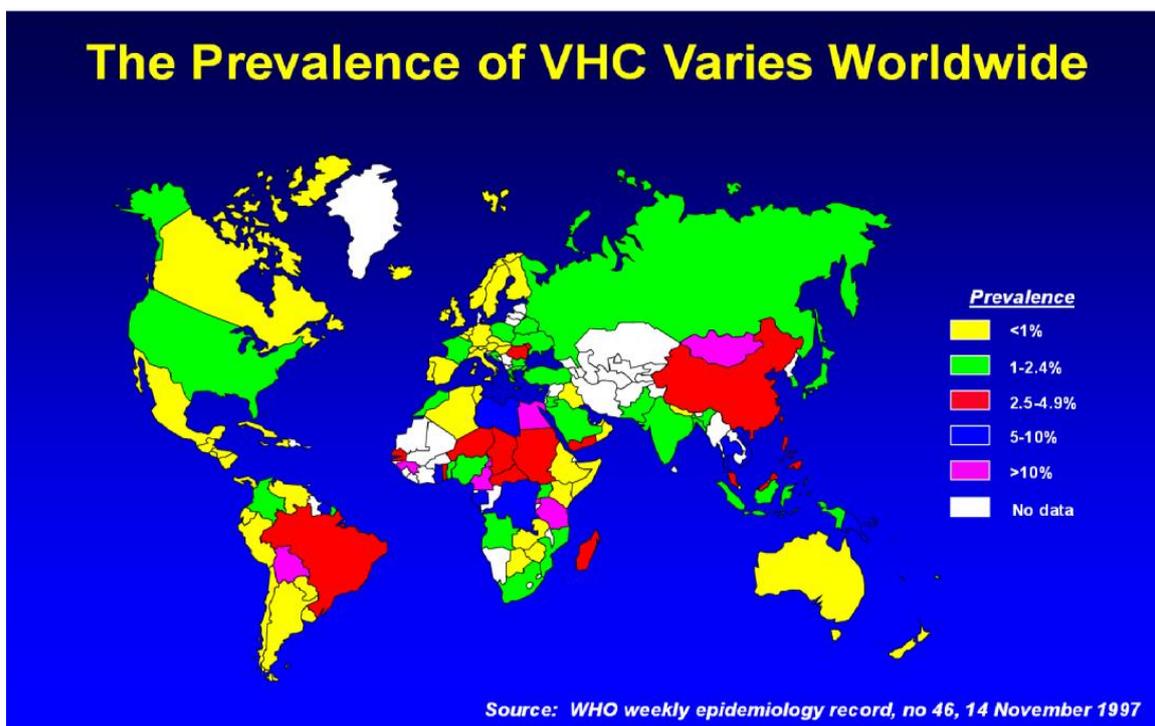


Figure 20 : Répartition de l'infection par le HCV dans le monde (OMS, 1997)

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 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%.(28)

### b. Classification

- Le virus de l hépatite C (HCV) classé dans le genre Hepacivirus au sein a la famille des Flaviviridae cette famille comporte deux genres :

✚ Le genre flavirus : 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.

Cette famille est constituée de virus enveloppés, sphériques, d'environ 40-50 nm dediamètre,dont le génome est formé d'ARN linéaire simple brin de 10 à 12kb.

Le VHC est un virus au tropisme restreint, infectant essentiellement les hépatocytes mais retrouvé également dans les cellules dendritiques et dans les cellules mononuclées du sang (38).

### c. Structure du VHC

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

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

La capsidie est entourée d'une enveloppe lipidique dans la quelle sont insérées deus protéines distinctes E1 et E2. Son poids moléculaire serait voisin de 4000000 Dalton (figure 21).

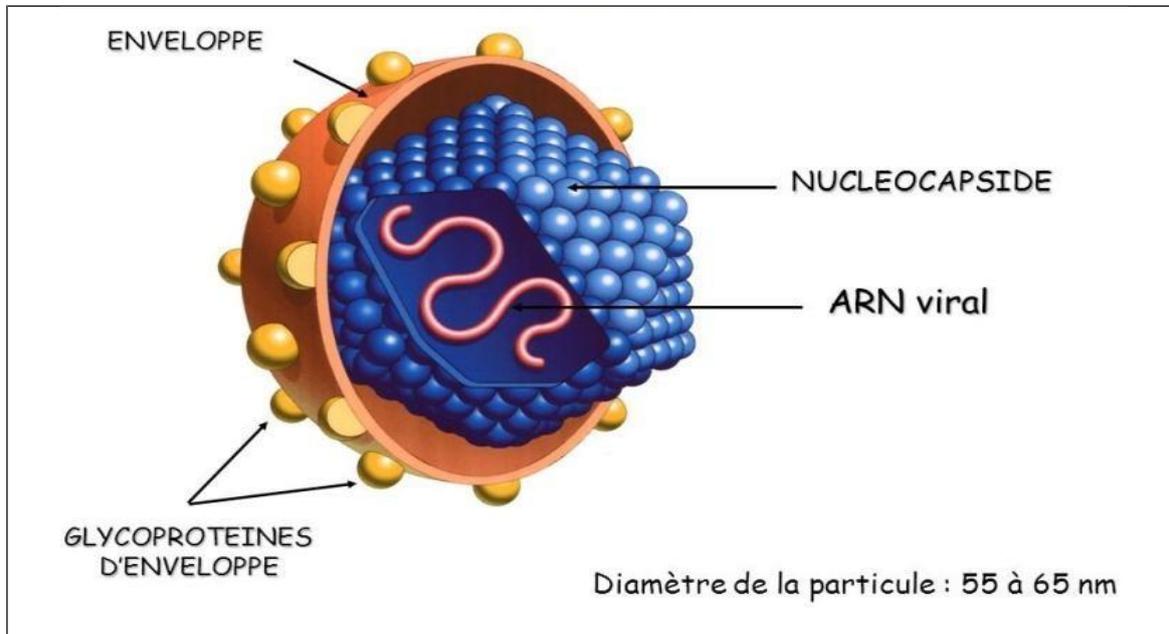


Figure 21 : Le virus de l'hépatite C.

Le génome de VHC est constitué d'une ARN monocaténaire, de polarité positive, d'une taille de 9600 nucléotides environ (39).

#### d. L'organisation Génomique Du VHC

-L'organisation génomique du VHC est la suivante :

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

- Une petite protéine appelée P7 a été identifiée. Elle est localisée entre E2 et la protéine NS2. Leur fonction est inconnue.
  - Les deux tiers restants du génome du VHC codent pour les protéines non structurales NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A, NS5B dont l'ordre a été établi (figure 22). (40)

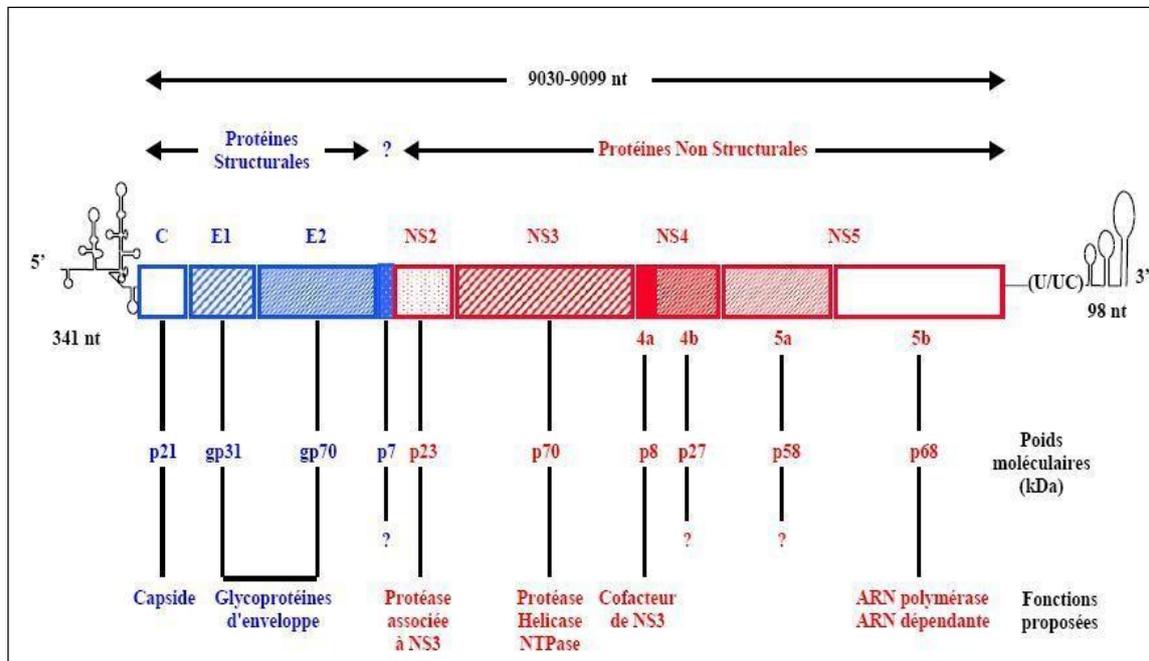


Figure 22 : Organisation génomique du VHC.

### e. Le Cycle Viral

Le cycle de vie du virus demeure mal connu, du fait de l'absence de système de réplication efficace. (41) Les cellules hépatocytaires sont le site principale de réplication virale du HCV.

L'identification des particules virales se fixant aux cellules hôtes et des récepteurs d'entrée a été possible dans un premier temps grâce au modèle des pseudoparticules HCV. Les virions HCV, libres ou associés à des apolipoprotéines, interagissent en cascade avec de nombreux récepteurs présents à la surface des hépatocytes. La première interaction virus-hépatocytes fait intervenir des glycosaminoglycans (GAGs) et des récepteurs des lipoprotéines (LDLR).

Ensuite, le récepteur cellulaire scavenger classe B site I (SR-BI) (42) formerait avec le récepteur cellulaire CD81 (43) un complexe permettant le transfert du HCV au niveau des jonctions serrées.

Ceci permet l'interaction du virus avec des protéines de jonctions serrées : claudin-1 (CLDN1) (44) et occludines (OCLN). Ces dernières facilitent l'internalisation du VHC par endocytose des récepteurs de surface liés aux particules VHC, via une voie clathrine dépendante. Dans les endosomes, le faible pH déclenche la fusion de l'enveloppe virale avec les membranes endosomales et la libération de l'ARN génomique dans le cytoplasme. La transcription des brins d'ARN de polarité positive peut alors débuter avec la synthèse d'un brin d'ARN complémentaire de polarité négative qui sert de matrice pour la production des brins d'ARN de polarité positive.

La découverte des nouveaux systèmes de cultures cellulaires du HCV a permis d'étudier les étapes tardives du cycle réplcatif telles que l'assemblage des 13 particules et la libération des virions. L'assemblage des particules virales à l'interface du RE et des organelles de stockage des matières grasses appelées « gouttelettes lipidiques » est déclenchée par l'association des protéines du core aux lipides. (45) La colocalisation du complexe de réplcation avec les protéines d'enveloppe du HCV facilite la production des virus infectieux. Ils sont ensuite libérés dans la lumière du RE et relargués à l'extérieur de la cellule par la voie de sécrétion des VLDL. (46) Il a récemment été montré in vitro que le VHC pouvait être transmis de cellules à cellules et que cela nécessitait la présence des récepteurs cellulaires CD81 et CLDN1 (47).

Les glycoprotéines d'enveloppe E1 et E2 impliquées dans l'entrée cellulaire s'assemblent pour former un hétérodimère. La glycoprotéine E2 joue un rôle majeur dans l'interaction avec les récepteurs SR-BI et CD81. Trois régions (AA 480 à 493, AA 528 à 535 et AA 544-551) sont impliquées dans l'interaction E2/CD81 (48) et plus récemment, des résidus spécifiques et conservés au sein des différents génotypes ont été décrits (W420, Y527, W529, G530 et D535).(49) La région HVR1 de E2 participe à l'interaction E2/SR-BI (42) Cette région très variable, participe à l'échappement viral face à la réponse immunitaire de l'hôte. Le rôle de la protéine E1 reste peu connu. Elle serait impliquée dans le processus de fusion des membranes (figure 23) (50).

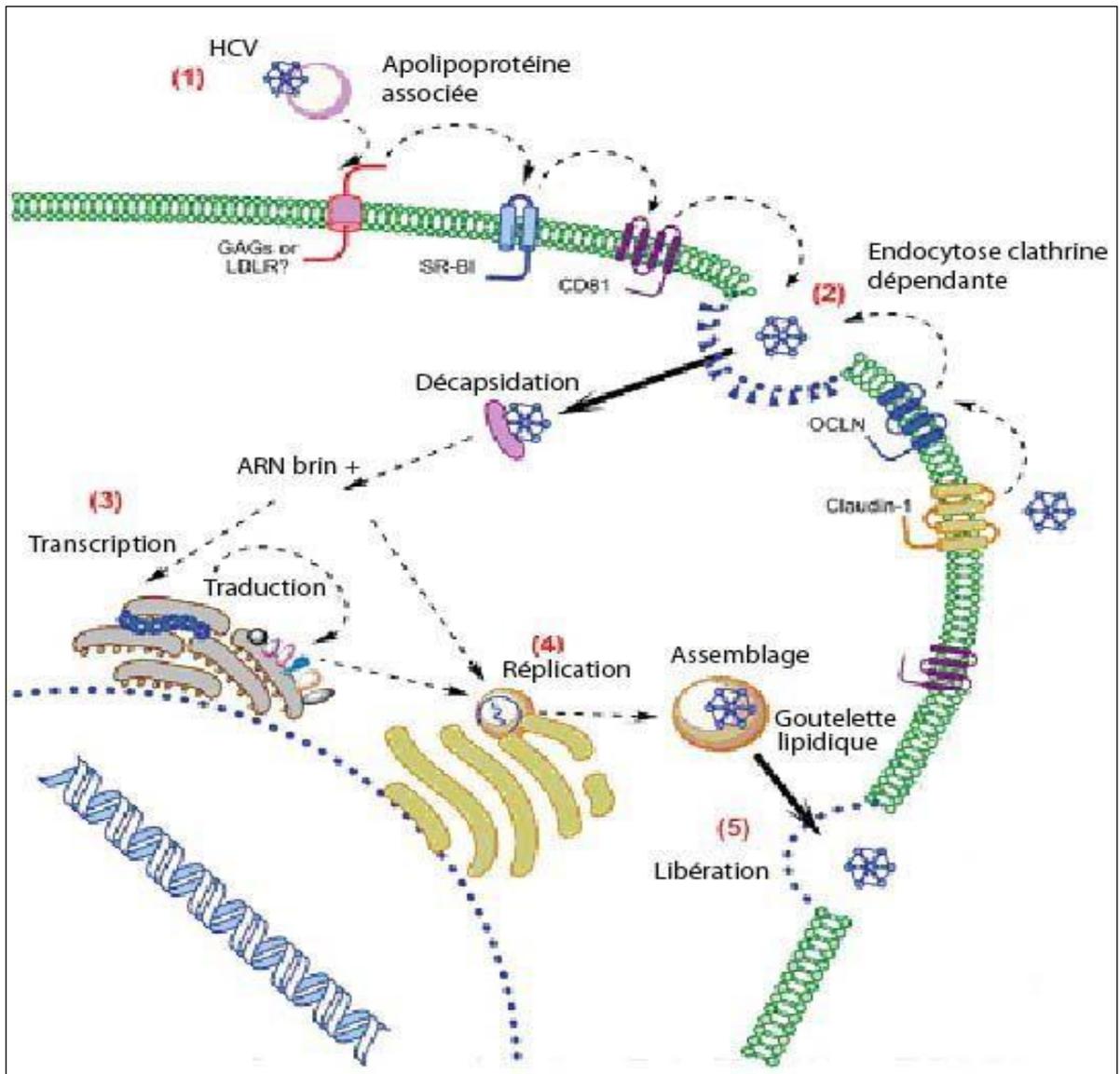


Figure 23 : Cycle répliatif du HCV.

## 1.2. Le virus de l'immunodéficience humaine (VIH/SIDA)

Les rétrovirus constituent une grande famille de virus, connus chez les animaux depuis le début du siècle comme responsables de leucémies, lymphomes et sarcomes (51).

Le virus de l'immunodéficience (VIH) est une maladie infectieuse épidémique, due à un virus. Ils se définissent par leur structure : particules de 100 nm de diamètre appartenant à la sous famille des Lentiviridae, possédant un génome fait de deux molécules d'acide ribonucléique (ARN) simple brin (52).

L'infection par les virus de l'immunodéficience humaine (VIH-1 et 2) et le syndrome d'immunodéficience acquis (SIDA) causé par le VIH constituent d'importants problèmes de santé publique dans le monde et principalement en Afrique. L'infection par le VIH cause une vaste gamme de maladies et son évolution clinique varie beaucoup, allant de symptômes grippaux bénins au sida, syndrome potentiellement mortel qui constitue le dernier stade de l'infection par le VIH.

Le VIH est transmis par les contacts sexuels, le partage d'aiguilles ou de seringues contaminées, les transfusions de constituants sanguins et l'exposition nosocomiale à du sang ou à des liquides organiques contaminés. Il peut également être transmis de façon verticale de la mère à l'enfant.

### a. Epidémiologie et répartition géographique du VIH/SIDA

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 40 millions de personnes ont été touchés par le VIH, la majorité de ces malades vivent dans les pays à revenu faible ou intermédiaire.

En Algérie selon les dernières statistiques 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 (53).

### ✚ Le VIH/SIDA dans le monde

On estimait à 4,9 millions (fourchette : 4,3-6,6 millions) le nombre de personnes nouvellement infectées par le VIH en 2005 (10 personnes par minute), soit l'équivalent à l'année 2004. Cela reste néanmoins supérieur aux années précédentes. Parmi 14.000 nouveaux cas par jour, plus de 95% sont dans des pays à faibles et moyens revenus et sur les 12.000 cas apparaissant chez les adultes (15-49 ans), 50% environ sont chez les 15-24 ans (ONUSIDA, 2005).

Aujourd'hui, ce sont environ 40,3 millions (fourchette : 36,7-45,3 millions) qui vivent avec le VIH, ce qui représente 1,2% de la population mondiale âgée de 15 à 49 ans, la répartition mondiale est la suivante : (figure 24)

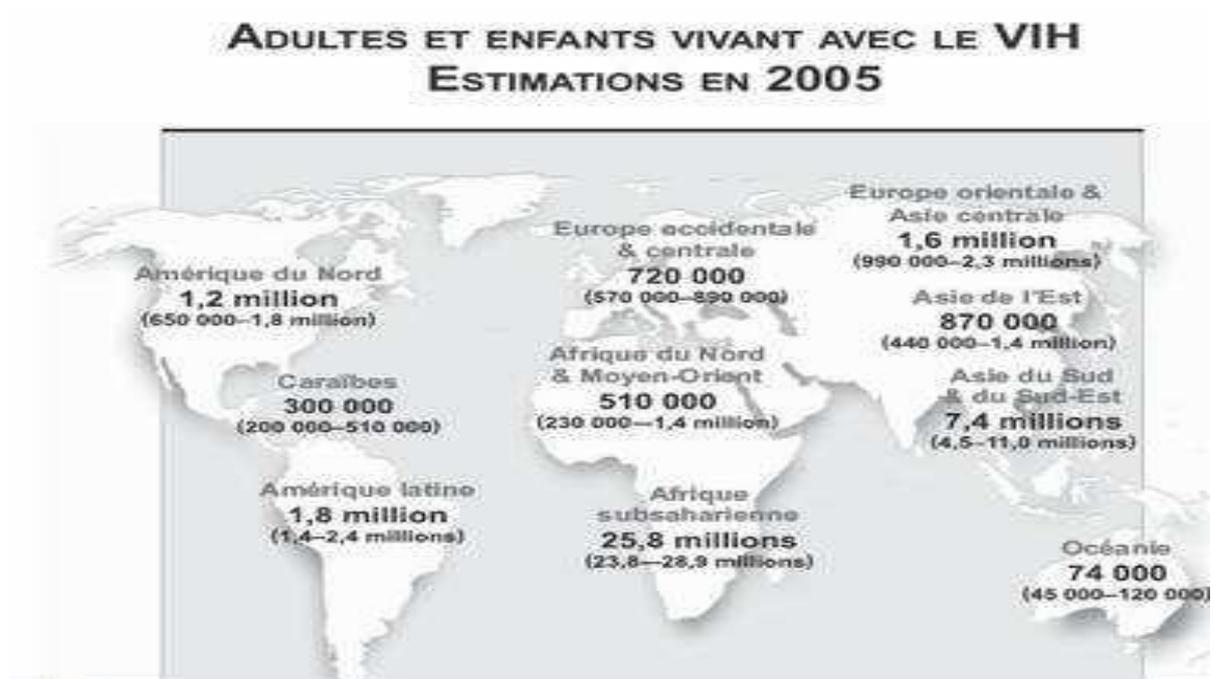


Figure 24 : Repartition Mondiale à la fin 2005 des adultes et des enfants vivant avec le VIH (ONUSIDA/OMS, 2005)

### b. Classification

Les VIH appartiennent à la famille des rétrovirus. Selon la pathogénie des rétrovirus on distingue trois sous-familles :

- les spumavirus sont les moins bien caractérisés. Ils ont été isolés de cellules en culture d'un grand nombre d'espèces de mammifères. Ils ne sont associés à aucune maladie connue .
- les oncovirus sont les rétrovirus les plus anciennement connus. Ils sont actuellement subdivisés en cinq groupes en fonction des espèces atteintes et de l'existence ou non d'oncogènes. Les *human T leukemia lymphoma virus*, HTLV-I et HTLV-II, identifiés chez l'homme en 1980 appartiennent à cette sous-famille .
- les lentivirus comprennent des virus impliqués dans des maladies non tumorales . Ils détruisent les cellules qu'ils infectent. Leur prototype animal est le *Visna maedi* dont le nom islandais provient des symptômes majeurs, pulmonaires et encéphalitiques qu'il entraîne chez le mouton (51).

### c. Caractéristiques virologiques Du VIH

Le VIH est un virus à ARN enveloppé qui possède, une nucléocapside dense excentrée quelquefois en forme de trapèze ou de barreau. En microscopie électronique, les deux virus (VIH-1 et VIH-2) présentent une morphologie similaire. La nucléocapside est constituée par des protéines internes du virus, la transcriptase inverse et de l'ARN viral (figure 25). (51)

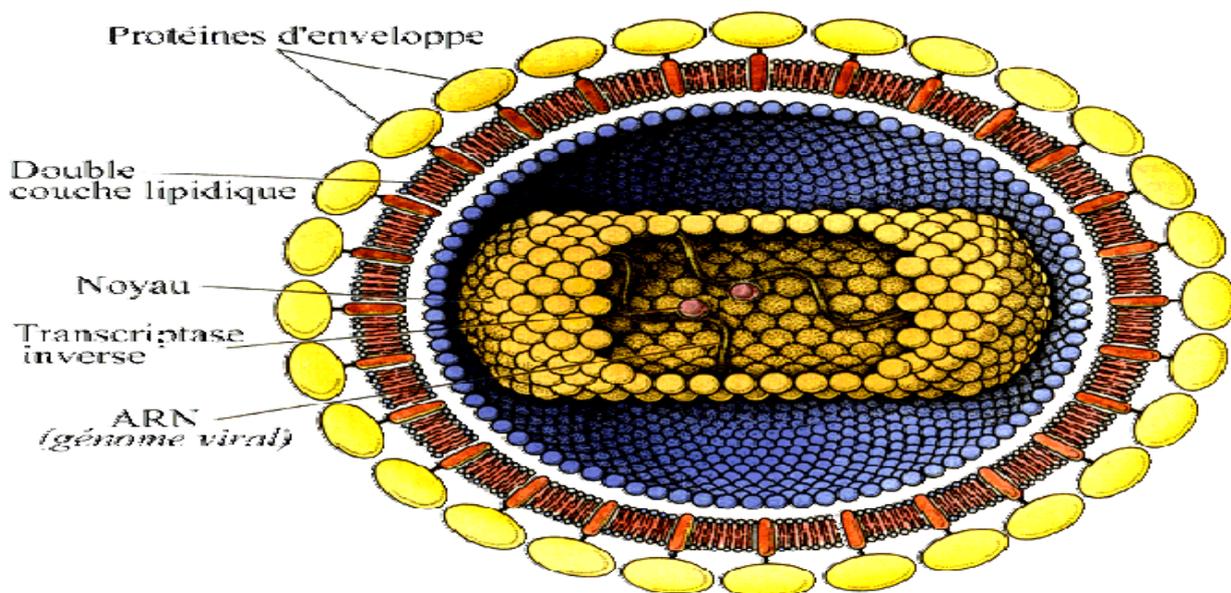


Figure 25 : Structure du virus d immunodéficience humaine

### d. Génome et propriété structurale du VIH

Le génome du VIH est constitué uniquement de deux molécules d'ARN monocaténaire de 9,2 kb et de polarité positive, disposant à chaque extrémité d'une région R identique, indispensable à la transcription inverse. Les ARN génomiques viraux ont une structure d'ARNm (ils possèdent une coiffe en 5' et sont polyadénylés en 3').

Il contient dans sa capsid des enzymes, la transcriptase inverse, l'intégrase, la protéase et la ribonucléase ainsi que deux (2) molécules d'ARN identiques (*enveloppées par la nucléocapside*) (54).

Le noyau viral est entouré d'une coquille de forme conique appelée p24, qui est la protéine centrale majeure et est identique pour le VIH-1 et le VIH-2. Cet ensemble constitue la capsid qui est recouverte par deux enveloppes : la coquille protéique ou p17 et la bicouche lipidique traversée par des protéines membranaires (gp 41 attachées à la matrice p17 et aux gp120) qui font saillie à la surface de la particule virale. Ce sont ces saillies et ces protéines d'enveloppe qui différencient le VIH-1 du VIH-2. Les protéines correspondantes du VIH-2 sont les gp110/130 et gp36. Comme tous les rétrovirus, les VIH-1 et VIH-2 sont produits par bourgeonnement à la surface des cellules infectées. Les VIH-1 et 2 se différencient par les gènes *vpu* et *vpx* (55).

#### d.1 La structure du virus

La structure du VIH comprend de l'intérieur vers l'extérieur :

- Une enveloppe constituée de glycoprotéines gp120, gp41 et d'une double couche de phospholipides;
- Une matrice formée de glycoprotéines gp17.
- Une capsid constituée de glycoprotéines gp24.

Le virus possède trois gènes codants pour les différentes protéines virales: Gag (groupe antigène) qui code pour des protéines de la capsid, Pol (polymérase) qui code pour des enzymes nécessaires à sa réplication, Env (enveloppe) qui code pour des glycoprotéines. Les gènes *gag*, *pol*, *env* sont régulés par des séquences terminales répétitives Long Terminal Repeat (LTR) qui sont créés lorsque la transcriptase reverse synthétise l'ADN proviral (figure 26) (55).

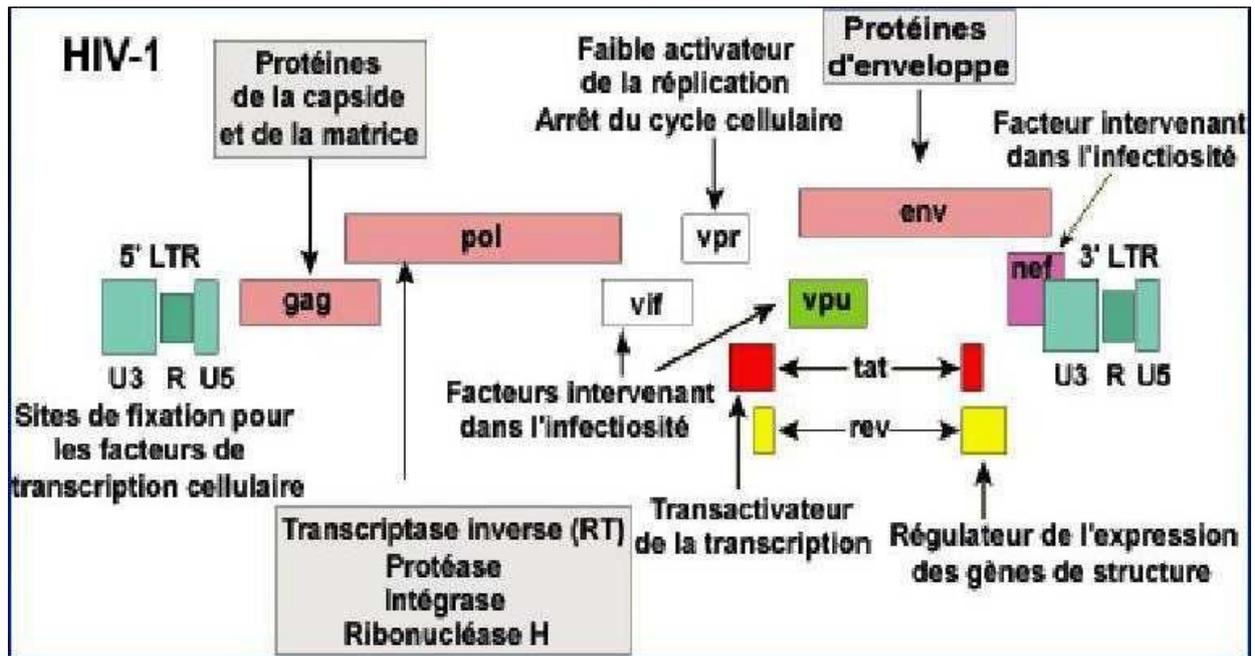


Figure 26 : Représentation schématique du génome du VIH-1 Selon Peterlin en 2003.

#### e. Infectiosité du VIH

Un contact infectieux avec le VIH se produit généralement au niveau des muqueuses gastro-intestinales ou génitales. Quoique les corécepteurs CXCR4 et CCR5 sont utilisés par le VIH pour infecter une cellule, les virus utilisent presque exclusivement le récepteur CCR5 lors de l'infection primaire (56). Au fil de la progression de la maladie, l'utilisation du récepteur CXCR4 par les souches virales s'observe chez environ la moitié des individus (57). Or, la muqueuse gastro-intestinale est le plus grand organe lymphoïde du corps humain et environ 70% de la population de lymphocytes s'y trouve (58).

Ces cellules expriment fortement CD4, CCR5 ainsi que les marqueurs d'activation HLA-DR et CD69 et sont donc très susceptibles à l'infection par le VIH (59).

Ce sont les cellules de la muqueuse gastro-intestinale qui sont généralement les toutes premières cellules qui vont rencontrer les virus transmis. Il va s'ensuivre une infection massive et une réplication virale importante et, plus de 50% des cellules exprimant CD4 et CCR5 seront infectées et détruites dans les deux à trois premières semaines suivant l'infection.

D'autres populations cellulaires sont présentes dans les muqueuses et sont susceptibles à l'infection. C'est le cas des cellules de Langerhans, qui sont des cellules dendritiques cutanées. Ces cellules sont très nombreuses dans les muqueuses cervicales et vaginales et expriment un fort niveau de récepteurs CD4 et de CCR5 (60).

Les cellules dendritiques, quant à elles, sont des cellules présentatrices d'antigènes et le VIH peut s'y attacher via le récepteur cellulaire DC-SIGN (CD209) (61). Les cellules dendritiques sont de grandes voyageuses de par leurs fonctions de présentation d'antigène et, vont malencontreusement propager l'infection vers d'autres organes lymphatiques comme les ganglions lymphatiques, le thymus et la rate. Suite à cette dissémination virale, la virémie devient alors très importante au niveau sanguin et le sujet infecté est fortement contagieux (figure 27).

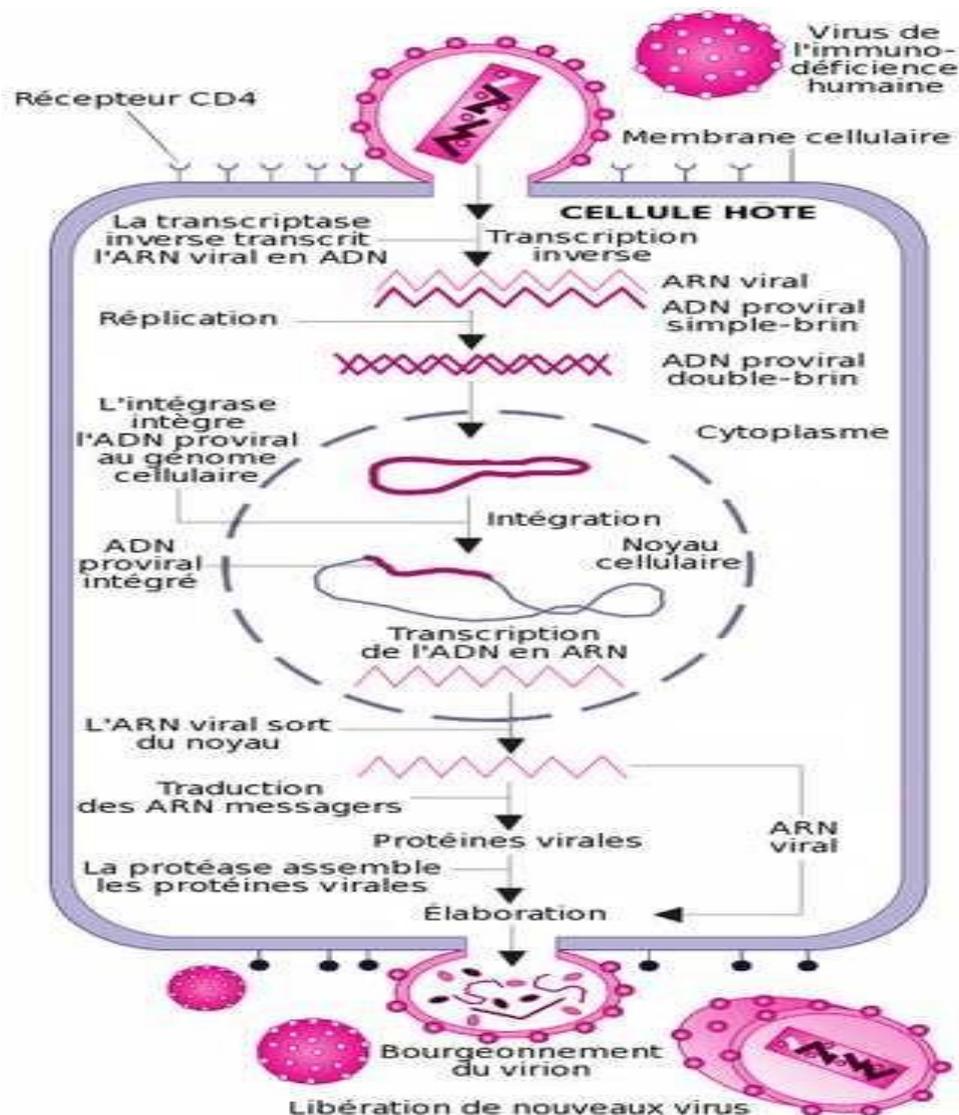


Figure 27 : Cycle de réplication du VIH selon sanon, 2007.

## 2. Les marqueurs biologiques

Les marqueurs biologiques sont des éléments diagnostiques essentiels. En effet est grâce à lui qu'il est possible de détecter certaines maladies.

Le dosage des marqueurs sérologique permet de mesurer tant les anticorps produits en réponse à l'infection viral que certains antigènes viraux .les résultats peuvent être qualitatifs ou quantitatifs.ils permettent de connaitre la fraction d'IgG ou d'IgM des anticorps circulants, mais aussi les anticorps totaux en englobant toutes les fractions circulantes (IgG et IgM) (62).

### 2.1. Les différents marqueurs biologiques du VHB

- ❖ Les marqueurs directs de la réplication virale
  - Les AgHBs
  - Les Ag HBe
  - L'ADN viral
  
- ❖ Les marqueurs indirects liés à la réponse immune
  - les Ac -anti-HBs
  - les anti-HBc de type IgG
  - les anti-HBc de type IgM
  - les Ac- anti HBe. (63)

### 2.2. Les différents marqueurs biologiques du VHC

- ❖ Les marqueurs directs :
  - Ag de capsid (Ag C)
  - ARN VHC
  - Génotype VHC
  - profil de résistance (64)
  
- ❖ Les marqueurs indirects :
  - Anticorps anti-VHC totaux

### 2.3. Les différents marqueurs biologiques du VIH :

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 :

❖ Marqueurs directs :

- L'ARN du VIH (ARN-VIH), recherché par des techniques de biologie moléculaire (65).

❖ Marqueurs indirects :

- les anticorps anti-VIH-1 et VIH-2.
- l'antigène p 24 (Ag p 24).

**Partie 2 :**

**Partie pratique**

# **Chapitre III**

## **DIAGNOSTIC**

## 1. Diagnostic des maladies virales:

En 2016, au niveau de laboratoire de CTS de SMK on utilise le test ELISA indirect pour réaliser la sérologie de quatre maladies virales endémique :

- Dépistage de l'hépatite B
- Dépistage de l'hépatite C
- Dépistage du VIH
- Dépistage de la syphilis

Au niveau de laboratoire d'analyse on utilise :

### 1. Le marqueur antigène HBs pour le diagnostic du VHB.

#### L'antigène HBs

Antigène trouvé principalement sur l'enveloppe du virus de l'hépatite B, dont il indique la présence, ce qui permet d'éliminer les donneurs de sang qui en sont porteurs et qui peuvent donc transmettre la maladie. Il provoque tardivement l'apparition de l'anticorps spécifique anti HBs, dont la présence annonce la guérison de la maladie (66).

### 2. Le marqueur anticorps anti-HCV pour le diagnostic du VHC.

### 3. Les marqueurs anticorps anti-VIH 1 et VIH 2 pour le diagnostic du VIH.

## 2. La technique ELISA

La technique ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay) est une technique immuno-enzymatique de détection qui permet de visualiser une réaction antigène-anticorps grâce à une réaction colorée produite par l'action sur un substrat d'une enzyme préalablement fixée à l'anticorps. (figure 28)

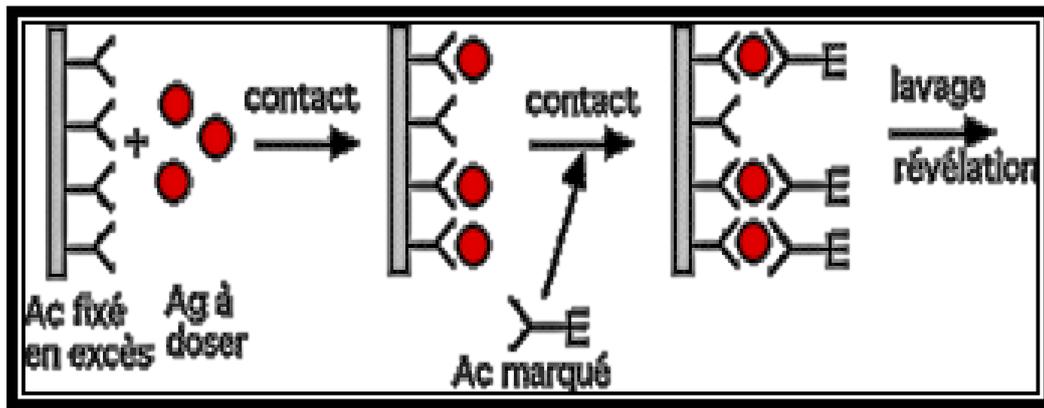


Figure 28: schéma générale présente le principe de la chaîne ELISA.

- Il existe 3 type de technique ELISA (direct, indirecte, sandwich)

#### Le test ELISA indirect :

Ce test permet de détecter ou doser des anticorps. Il se réalise en 4 étapes:

1. La première étape appelée "coating" de l'antigène:

Elle consiste à incuber dans des puits, la solution d'antigène spécifique de l'anticorps recherché. La fixation de l'antigène sur le fond des puits se fait électro statiquement. Les plaques sont incubées. Les puits sont ensuite lavés pour éliminer les antigènes en excès avec du tampon de lavage.

2. La deuxième étape consiste à fixer l'anticorps à doser:

On incube à 37°C dans les puits, la solution d'anticorps à doser pendant environ 30 minutes à 2 heures. Les anticorps se fixent spécifiquement sur l'antigène. Les puits sont ensuite lavés pour éliminer les anticorps à doser en excès avec du tampon de lavage.

3. La troisième étape consiste à fixer l'anticorps de détection:

On incube à 37°C dans les puits, la solution d'anticorps de détection pendant environ 30 minutes à 2 heures. Les anticorps de détection se fixent spécifiquement sur les anticorps à doser. Les puits sont ensuite lavés pour éliminer les anticorps de détection en excès avec du tampon de lavage. Notons que les anticorps de détection sont couplés à une enzyme qui en présence de son substrat le transforme en produit de réaction détectable et mesurable grâce à l'apparition d'une coloration.

#### 4. La quatrième étape consiste à révéler les anticorps fixés:

On incube à température ambiante et à l'obscurité pendant 10 minutes, une solution révélatrice contenant le substrat pour l'enzyme. L'apparition d'une coloration dans le substrat indique la présence de l'anticorps à doser. L'intensité de celle-ci est proportionnelle à la quantité d'enzyme présent et donc à la concentration d'anticorps recherché (figure 29) (67).

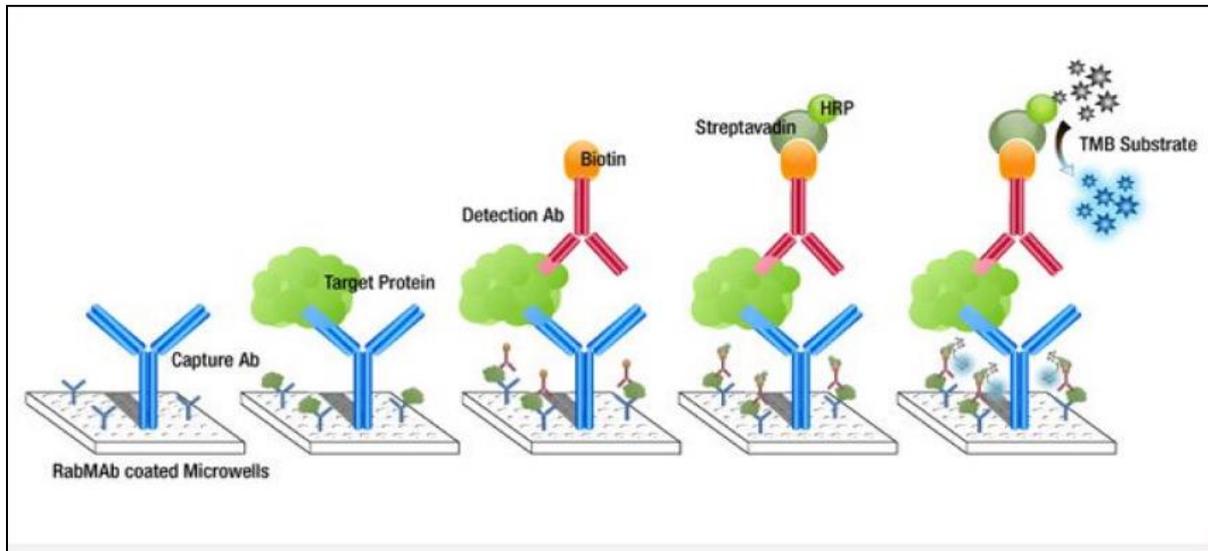


Figure 29 : méthode d'ELISA indirect

### 3. les protocoles

Le principe dans les 3 protocoles est le même (la technique ELISA indirecte, réaction Anticorps –Antigène) et chaque KIT a son mode opératoire spécifique.

#### 3.1. Diagnostic de l'hépatite B

##### 3.1.1. Matériels

- Centrifugeuse de paillasse thermostaté , réglé à la vitesse de (2000Tours/minutes), adaptable aux tubes a 5-10ml. (thermo, fréquence : 11175670)
- Réfrigérateur (J.Rselecta, fréquence : 2101497)
- Bain marie ou incubateur sec, pouvant être thermostaté a 37 °C (thermo made in France, fréquence : 42741000)
- Laveur (thermo made in France, fréquence : 5150770)
- Spectrophotomètre 450 nm (thermo made in France, fréquence : 41290002)
- Micropipette réglable : monoclonal (20-100ul et 200-1000ul) et multicanaux (8 canaux de 20-100ul)

- KIT d'ELISA (Ag HBs)
- Les embouts jaunes (0-100ul)
- Les embouts bleus (100-1000ul)
- Portoirs pour des tubes de 5-10ml
- Conteneur pour déchets
- Gants de latex
- Désinfectant (eau de javel)
- Papier absorbant

### 5.1.2. Réactifs

Tableau 6: composition de KIT de « BIO-RAD » destinée au dépistage du VHB

Réactifs	Caractéristiques des réactifs
Microplaque	12 barrettes de 8 cupules sensibilisées avec des anticorps monoclonaux anti-HBs (souris)
Réactif conjugué	-Des anticorps anti-IgG lyophilisées et marqués a la peroxydase - stable pendant une semaine à la température ambiante 27 °C ou 2 semaines a 2-8 °C
Sérum de contrôle positif	-Sérum humain constitue antigène HBs dilué. - Stable pendant un mois à 2-8 °C
Sérum de contrôle négatif	-Protéine stabilisé le tampon testé ne régie pas avec l'antigène HBs - Stable pendant un mois à 2-8 °C
Diluant des échantillons	-Protéine stabilisé le tampon de caséine et de solution de saccharose -Stable pendant un mois à 2-8 °C
Solution Chromogène A	-Solution de peroxyde d'urée -Stable pendant un mois à 2-8 °C
Solution Chromogène B	-Solution de TMB (Tétra-méthyle benzidine dissous dans l'acide citrique) -Stable pendant un mois à 2-8 °C
Solution stop	-Une solution d'acide sulfurique diluée
Solution de lavage	-Solution concentré (20×), PH 7.4 -Dilué avant l'usage

## 3.1.3. Mode opératoire

- Après le prélèvement du sang dans des tubes secs (sans anticoagulant), centrifuger les tubes de 2 à 5min (2000tr/min) à la température ambiante.

- Préparer la microplaque

- 2 puits pour contrôle négatif
- 1 puits pour contrôle positif
- 1 puits pour chaque échantillon

Tableau 7: Réactifs de chaque puits du microplaque (protocole VHB)

N° de puits Réactifs	Puits de contrôle NEGATIF *	Puits ECHANTILLON (Ei) **	Puits de contrôle POSITIF **
Diluant des échantillons	—	100 µl	—
Echantillon (Ei)	—	20 µl	—
Sérum de contrôle positif	—	—	100 µl
Sérum de contrôle négatif	100 µl	—	—
Réactif Conjugué	50 µl	50 µl	50 µl
Solution Chromogène A	50 µl	50 µl	50 µl
Solution Chromogène B	50 µl	50 µl	50 µl
Solution stop	50 µl	50 µl	50 µl

\*Essai en double

\*\* Essai en simple

- Déposer 100 µl du diluant seulement dans les puits des échantillons.

- Ajouté 100  $\mu\text{l}$  contrôle négatif et de contrôle positif et 20  $\mu\text{l}$  des sérums des échantillons dans leurs puits respectivement.
  - Homogénéiser la plaque doucement (agitation manuelle).
  - Couvrir la plaque et incuber pendant 60 minutes à 37°C dans un incubateur thermostat pour assurer la stabilité et l'humidité.
  - Après l'incubation sortir la plaque.
  - Puis, avec un laveur (thermo) laver chaque puits cinq fois par la solution de lavage diluée.
  - Ajouter 50  $\mu\text{l}$  de conjugué dans tout les puits.
  - Homogénéiser la plaque doucement (agitation manuelle).
  - Couvrir la plaque et incuber pendant 30 minutes à 37°C dans un incubateur thermostaté pour assurer la stabilité et l'humidité.
  - Après l'incubation sortir la plaque, Puis laver chaque puits cinq fois par la solution de lavage diluée.
  - Ajouté 50 $\mu\text{l}$  de chromogène A et 50 $\mu\text{l}$  de chromogène B dans tous les puits.
- \* La réaction enzymatique entre les solutions de chromogène A et B produit la couleur Bleu dans le contrôle positif.
- Couvrir la plaque quelques minutes pour éviter la lumière
  - Mettre 50 $\mu\text{l}$  de solution stop dans tous les puits pour produit la couleur Jaune dans le contrôle positif.
  - Homogénéise doucement la plaque (agitation manuelle).
  - La lecture de l'absorbance de la microplaque doit être réalisé dans la demi-heure de l'arrêt de la réaction a 450 nm. (figure 30)



Figure 30 : lecture de la densité optique (DO)

- Vérifier et valider les résultats du contrôle qualifié par les 2 conditions suivantes :
  - La DO de contrôle positif doit être supérieure ou égale à 1.000 à 450 nm.
  - La DO de contrôle négatif doit être inférieure à 0.080 à 450 nm.
- Calculer la valeur seuil ( $V_s$ ) par la relation suivante :

$$V_s = \text{la moyenne de la DO du contrôle négatif} \times 2.1$$

- Si la  $V_s$  inférieure à la DO d'échantillon, signifié absence de l'hépatite B.
- Si la  $V_s$  supérieure à la DO d'échantillon, contamination confirmé de l'hépatite B.

### 3.2. Diagnostic de l'hépatite C

#### 3.2.1. Matériels

Le matériel utilisé est le même que celui du diagnostic de VHB, sauf le KIT

- KIT d'ELISA (Anticorps Anti-VHC)

#### 3.2.2. Réactifs

Tableau 8: composition de KIT de « BIO-RAD » destinée au dépistage du VHC

Étiquetage	Réactifs	Natures des réactifs
R1	Microplaque	12 barrettes sensibilisées avec un anticorps monoclonal anti-capside du VHC et des antigènes recombinants purifiés (NS3, NS4) et un peptide muté de la région capsidique du VHC
R2	solution de lavage	Solution de lavage concentrée (20X) Tampon tris, NaCl, pH = 7,4

R3	sérum de control négatif	Tampon Tris HCl, contenant de la SAB
R4	sérum de control positif	Sérum humain contenant des anticorps anti-VHC et négatif pour l'antigène HBs et pour les anticorps anti-HIV1 et anti-HIV2 dilué dans un tampon Tris HCl contenant de la SAB., inactivé photo chimiquement.
R6	Diluant des échantillons	Diluant des échantillons Tampon Citrate, couleur rose.
R7	Réactif conjugué	Anticorps souris anti-IgG humaines marqués à la peroxydase, Coloré en vert.
R8	Tampon substrat	Acide citrique et solution acétate de sodium contenant H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> et diméthyle sulfacide. PH=4.
R9	Chromogène B	Solution contenant du tétraméthyl benzidine (TMB).
R10	Solution d'arrêt	Solution d'acide sulfurique 1 N.

### 3.2.3. Mode opératoire

- Après le prélèvement du sang dans des tubes secs (sans anticoagulant), centrifuger les tubes de 2 à 5min (2000tr/min) à la température ambiante.

-Préparer la microplaque selon le nombre d'échantillon.

- 1 puits pour contrôle négatif
- 2 puits pour contrôle positif
- 1 puits pour chaque échantillon

Tableau 9: Réactifs de chaque puits de la microplaque (protocole VHC)

N° de puits Réactifs	Puits de contrôle NEGATIF **	Puits ECHANTILLON (Ei) **	Puits de contrôle POSITIF *
Diluant des échantillons (R6)	—	100 µl	—
Echantillon (Ei)	—	50 µl	—

Sérum de contrôle positif (R4)	—	—	50 µl
Sérum de contrôle négatif (R3)	50 µl	—	—
Réactif Conjugué (R7)	50 µl	50 µl	50 µl
Tampon substrat (R8)	1 µl	1 µl	1 µl
Solution Chromogène B (R9)	10 µl	10 µl	10 µl
Solution D'arrêt (R10)	100 µl	100 µl	100 µl

\*Essai en double

\*\* Essai en simple

- Déposer 100µl du diluant seulement dans les puits des échantillons.
  - Ajouté 50 µl contrôle négatif (R3) et de contrôle positif (R4) et des sérums des échantillons dans leurs puits respectivement.
  - homogénéiser la plaque doucement (agitation manuelle)
  - Couvrir la plaque et incuber pendant 60 minutes à 37°C dans un incubateur thermostaté pour assurer la stabilité l'humidité et la température.
  - Après l'incubation sortir la plaque.
  - Puis, avec un laveur (thermo) laver chaque puits cinq fois par la solution de lavage dilué.
  - Ajouter 50 µl de conjugué (R7) dans tous les puits.
  - Couvrir la plaque et incuber pendant 30 minutes à 37°C dans un incubateur thermostaté pour assurer la stabilité et l'humidité.
  - Après l'incubation sortir la plaque, Puis laver chaque puits cinq fois par la solution de lavage dilué\*
- \* pour préparer la solution de lavage dilué, mettre 10 ml de solution de lavage dans 900 ml de l'eau distillé.
- Mélanger (1µl de Tampon substrat (R8) +10µl de Chromogène B (R9)) et ajouté dans tous les puits.

- homogénéiser la plaque doucement (agitation manuelle).
- Laisse la plaque quelques minutes dans l'obscurité jusqu'à l'obtention de la couleur Bleu foncé du contrôle positif et le Rose au contrôle négatif.
- Mettre 100µl de solution d'arrêt dans tout les puits pour produit la couleur Jaune dans le contrôle positif et la couleur transparente (aucune couleur) dans le contrôle négatif.
- Homogénéise doucement la plaque (agitation manuelle).
- la lecture de l'absorbance de la microplaque doit être réalisée dans la demi-heure de l'arrêt de la réaction a 450 nm. (figure )
- Vérifier et valider les résultats du contrôle qualifié par les 2 conditions suivants :
  - La DO de contrôle positif doit être supérieur ou égale à 0.800 à 450 nm.
  - La DO de contrôle négatif doit être inférieur à 0.100 à 450 nm.
- Calculer la valeur seuil (Vs) par la relation suivante :

$$Vs = \text{la moyenne de la DO du contrôle positif} \times 0.4$$

- Si la DO d'échantillon inférieur a la Vs, signifié absence de l'hépatite C.
- Si la DO d'échantillon supérieur a la Vs, contamination confirmé de l'hépatite C.

### 3.3. Diagnostic de VIH

#### 3.3.1. Matériels

Le matériel utilisé est le même que celui des diagnostics de VHB et VHC, sauf le KIT

- KIT d'ELISA (Anticorps anti-VIH 1 et anti-VIH 2)

#### 3.3.2. Réactifs

Tableau 10: composition de KIT de « BIO-RAD » destinée au dépistage du VIH

Réactif	Nature des réactifs
Conjugué	une bouteille contenant un tampon rouge contenant la peroxydase conjugué antigène recombinant VIH
Sérum de control positif VIH-1	une bouteille contenant du sérum humain inactivé constitué par des anticorps à HIV 1 diluée dans un tampon contenant des protéines d'origine bovine
Sérum de control positif VIH-2	une bouteille contenant du sérum humain inactivé constitué par les anticorps monoclonaux dirigés contre le VIH 2 dilués dans un

	tampon contenant une protéine d'origine bovine
Sérum de control négatif	une bouteille contenant du sérum humain normal dilué dans un tampon contenant une protéine d'origine bovine
Chromogène A	Solution peroxyde hydrogène
Chromogène B	Solution TMB
Solution stop	Solution d'arrêt
Solution de lavage concentré	Ph= 4, dilué avant l'utilisation

## 3.3.3. Méthode de travail

- Après le prélèvement du sang dans des tubes secs (sans anticoagulant), centrifuger les tubes de 2 à 5min (2000tr/min) à la température ambiante.

- Préparer la microplaque

- 2 puits pour contrôle négatif
- 2 puits pour contrôle positif (CP1 et CP2)
- puits pour chaque échantillon

Tableau 11: Réactifs de chaque puits de la microplaque (protocole VIH)

N° de puits Réactifs	Puits de contrôle NEGATIF *	Puits ECHANTILLON (Ei) **	Puits de contrôle POSITIF (CP2)*	Puits de contrôle POSITIF (CP1)*
Echantillon (Ei)	—	50 µl	—	—
Sérum de contrôle positif VIH-1	—	—	50 µl	50 µl
Sérum de contrôle négatif VIH-2	50 µl	—	—	—
Réactif Conjugué	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl
Solution Chromogène A	50 µl	50 µl	50 µl	50 µl
Solution Chromogène B	50 µl	50 µl	50 µl	50 µl
Solution D'arrêt	50 µl	50 µl	50 µl	<b>50 µl</b>

\*Essai en double

\*\* Essai en simple

- Déposer 50µl de contrôle négatif et de contrôle positif et les sérums des échantillons dans leurs puits respectivement.
- Couvrir la plaque et incuber pendant 60 minutes à 37°C dans un incubateur thermostaté pour assurer la stabilité et l'humidité.
- Après l'incubation sortir la plaque.
- Puis, avec un laveur (thermo) laver chaque puits cinq fois par la solution de lavage diluée\*.

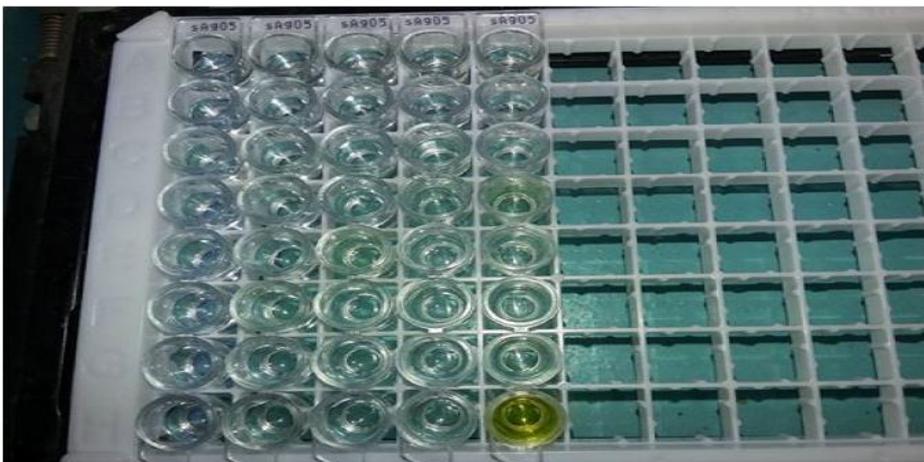
\* pour préparer la solution de lavage diluée, mettre 25 ml de solution de lavage dans 1200 ml de l'eau distillé.

- Ajouter 100 µl de conjugué dans tous les puits.
- Couvrir la plaque et incuber pendant 30 minutes à 37°C dans un incubateur thermostaté pour assurer la stabilité et l'humidité de la température.
- Après l'incubation sortir la microplaque, Puis laver chaque puits cinq fois par la solution de lavage diluée.

- Ajouté 50µl de chromogène A et 50µl de chromogène B dans tout les puits.

\* La réaction enzymatique entre les solutions de chromogène A et B produit la couleur Bleu dans le contrôle positif.

- Couvrir la plaque quelques minutes pour éviter la lumière.
- Mettre 50µl de solution stop dans tout les puits pour produit la couleur Jaune dans le contrôle positif.
- Homogénéise doucement la plaque (agitation manuelle).



- La lecture de l'absorbance de la microplaque doit être réalisée dans la demi-heure de l'arrêt de la réaction à 450 nm. (figure )

- Vérifier et valider les résultats du contrôle qualifié par les 2 conditions suivants :

- La DO de contrôle positif doit être supérieur ou égale à 1.000 à 450 nm.
- La DO de contrôle négatif doit être inférieur à 0.080 à 450 nm.

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

$$V_s = \text{la moyenne de contrôle négatif} + 0.100$$

- Si la  $V_s$  inférieur à la DO d'échantillon, signifié absence du VIH.
- Si la  $V_s$  supérieur à la DO d'échantillon, contamination confirmé du VIH.

#### 4. Résultats et interprétation des résultats

On peut déterminer les résultats après une comparaison entre les couleurs des cupules qui comportent des sérums du donneur avec les réactifs des contrôles positifs et négatifs et confirmer nos résultats par la comparaison de chaque absorbance enregistrée des échantillons à celle de la valeur seuil calculée.

##### ➤ Résultats négatifs

Pour les cupules ne possédant aucune coloration (transparente) identique à celle des réactifs de contrôle négatif cela signifie :

- l'absence d'antigène HBs .
- l'absence d'anticorps anti-VHC.
- l'absence des anticorps anti- VIH 1 et anti-VIH 2.

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

##### ➤ Résultats positifs

Pour les cupules possédant la couleur jaune identique à celle des réactifs de contrôle positif cela signifie :

- la présence d'antigène HBs .
- la présence d'anticorps anti-VHC.

- la présence des anticorps anti- VIH 1 et anti-VIH 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 le quel le substrat se joint au complexe et va réagir avec la peroxydase.

**NB.** Les résultats douteux (faux positif) devront être confirmés par répétition de méthode 3 fois.

Calcul des résultats :

Comparaison de l'absorbance d'échantillon à celle de la valeur seuil calculée.

- Exemple d'une plaque de VHB :

Sérums	DO
Contrôle négatif	0.51
Contrôle négatif	0.54
Contrôle positif	0.815
Echantillon 1	0.062
Echantillon 2	0.032

$$V_s = \text{moyenne de contrôle négatif} \times 2.1$$

$$V_s = 0.525 \times 2.1$$

$$V_s = 1.102$$

- \* la  $V_s$  inférieur à La DO des échantillons 1 et 2 (signifie l'absence de VHB sur les deux échantillons).

- Exemple d'une plaque de VHC :

Sérums	DO
Contrôle négatif	0.071
Contrôle positif	1.217
Contrôle positif	1.215
Echantillon 1	0.082
Echantillon 2	0.065

$$V_s = \text{moyenne de contrôle positif} \times 0.4$$

$$V_s = 1.216 \times 0.4$$

$$V_s = 0.486$$

\* La DO d'échantillons 1 et 2 inférieure à la  $V_s$  (signifie l'absence de VHC sur les deux échantillons).

- Exemple d'une plaque de VIH:

Sérums	DO
Contrôle négatif	0.047
Contrôle négatif	0.038
Contrôle positif 1	2.15
Contrôle positif 2	2.09
Echantillon 1	0.082
Echantillon 2	0.032

$$V_s = \text{moyenne de contrôle négatif} + 0.100$$

$$V_s = 0.042 + 0.100$$

$$V_s = 0.142$$

- \* La  $V_s$  inférieure à la DO des échantillons 1 et 2 (signifie l'absence de VIH sur les deux échantillons).

## 5. Exploitation des résultats

### ➤ Résultats négatifs

Le sang dont la sérologie est négative (l'absence d'antigène HBs, anticorps anti-VHC et anticorps anti-VIH 1 et anti-VIH 2). donc on peut entamer la production des PSL (préparation, qualification et distribution).

### ➤ Résultats positifs

- 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).

**Chapitre IV**  
**Enquête**  
**rétrospective**

## 1. Matériels et méthodes

Il s'agit d'une étude rétrospective qui s'est déroulée au centre de transfusion sanguine (CTS) de Sidi mabrouk (SMK), Constantine. Du 1er janvier 2012 au 31 décembre 2015. Dans ce centre, nous avons recueilli anonymement les informations des registres de tous les donneurs de sang.

Ces informations sont annotées dans deux registres :

- \* Registre 1 : contient les informations de pré-don des donneurs potentiels
- \* Registre 2 : Contient les informations de la sérologie (VIH, VHB, VHC et Syphilis) des donneurs apte cliniquement.

Dans notre enquête on utilise un imprimé type (Tableau 12) pour recueilli les informations de différentes études de l'enquête.

Tableau 12: imprimé type.

Pa N°	Age	Sexe		Inaptitude de don			Donneur du sang				Groupage	Sérologie				Annulée	Profession
		H	F	T	P	NS	Reg	Occ	1 <sup>er</sup> don	NS		VIH	HB	HC	S		
1																	
2																	
3																	
4																	
5																	

Pour la saisie et la confection d'une mini-base de donné, le manque de précision des informations recherchés nous a obligé à travailler uniquement avec les paramètres suivants : Age, Sexe, Sérologie. (Tableau 13)

Tableau 13: les informations de notre enquête.

N° série	Age	Sexe		Sérologie			
		H	F	VIH	HB	HC	Syphilis
1							
2							
3							
4							

### 1.1. Description des populations

Les populations ciblées de notre enquête sont des donateurs volontaires et bénévoles, la collecte des dons est réalisée sur deux sites :

- \* Site fixe : a l'antérieur du CTS (donneurs volontaires, réguliers ou contre partie)
- \* Site mobile : a l'extérieur du CTS par des unités mobiles qui se déplacent pour collecter du sang chez des volontaires dans différents établissements publics et privés (associations, facultés, cité universitaire, lycées, banques, mosquées...)

### 1.2. Organigramme des populations :

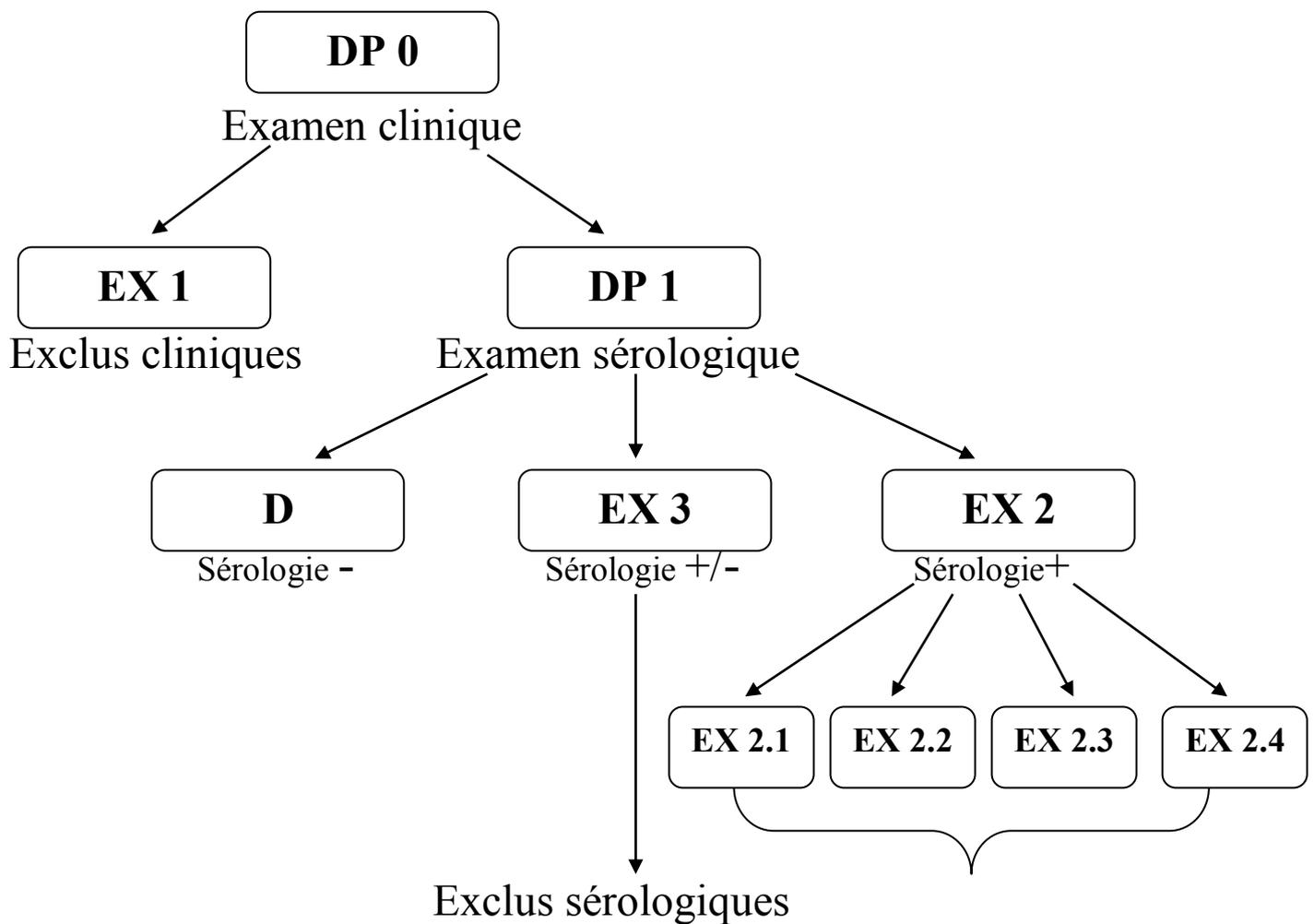


Figure 31 : Organigramme des différentes populations de notre enquête

(DP 0) : population des donneurs potentiels initiaux.

(DP 1) : population des donneurs aptes cliniquement.

(D) : les donneurs retenus (sérologie négatif).

(EX 1) : population des donneurs exclus cliniques.

(EX 2) : population des donneurs exclus sérologiques (sérologie positif)..

(EX 3) : population des donneurs exclus sérologique (test non concluant).

(EX 2.1) : population des donneurs exclus sérologiques (VIH).

(EX 2.2) : population des donneurs exclus sérologiques (VHB).

(EX 2.3) : population des donneurs exclus sérologiques (VHC).

(EX 2.4) : population des donneurs exclus sérologiques (Syphilis).

## 2. Résultats

Les données qui suivent sont constituées par les résultats des différentes populations de l'enquête durant quatre ans (2012, 2013, 2014,2015) qui sont résumé dans le Tableau 14.

Tableau 14 : Inventaire des différentes populations de l'enquête

Paramètre année	DP0	DP1			D	EX1	EX2				EX3
		Nb	H	F			VIH	HB	HC	S	
2012	4221	4065	2993	1072	3961	156	0	12	4	1	87
2013	4004	3935	3529	406	3721	69	0	29	6	3	97
2014	2711	2671	1780	991	2620	40	1	11	0	4	35
2015	3109	2970	2168	802	2931	139	0	9	2	4	24

### 2.1. le sexe ratio

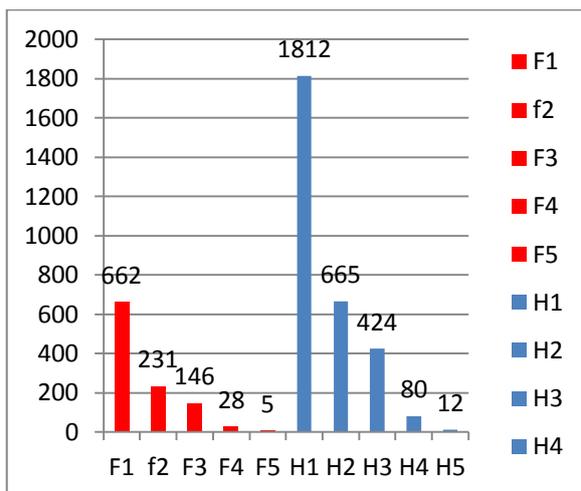


Figure 32 : Distribution de DP1 homme et femme par Tranche d'âge en 2012

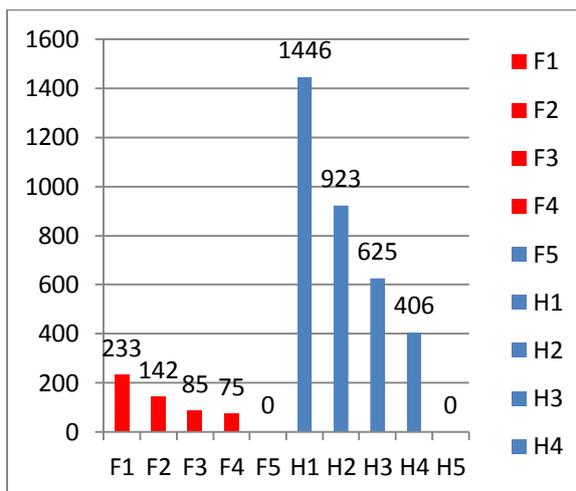


Figure 33 : Distribution de DP1 homme et femme par Tranche d'âge en 2013

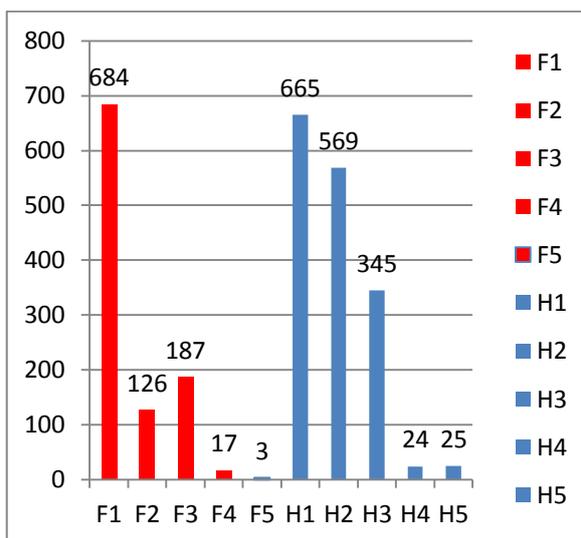


Figure 34 : Distribution de DP1 homme et femme par Tranche d'âge en 2014

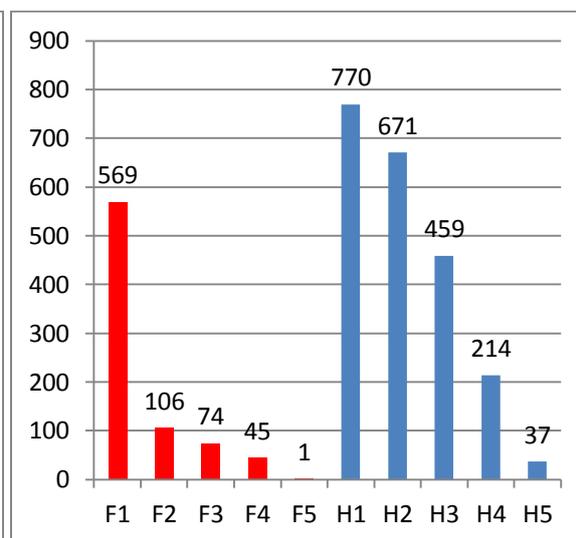


Figure 35 : Distribution de DP1 homme et femme par Tranche d'âge en 2015

D'après les figures (32.33.34.35) il ya une diminution des donneurs aptes cliniquement (DP1) (homme et femme) en fonction de tranche d'âge, la tranche [18-27] était la plus élevée (homme et femme).L'effectif des femmes augmenté en 2014 et 2015.

### 2.2. La prévalence

La prévalence d'une maladie est définie par le nombre de patients atteints de la maladie divisé par la population totale à un moment précis. La prévalence est élevée pour les maladies

fréquentes et pour celles qui durent longtemps. Ainsi, une maladie qui tue rapidement comme un cancer agressif aura une prévalence plus faible qu'une autre qui tue lentement (68).

$$\text{Prévalence} = \frac{\text{Nombre de personne avec la maladie}}{\text{Nombre de personne à risque de la maladie}}$$

### 2.2.1. La prévalence des exclus cliniques (EX1)

Prévalence des donneurs exclus cliniques =  $\frac{\text{population des donneurs exclus cliniques}}{\text{Population des donneurs potentiels initiaux}}$

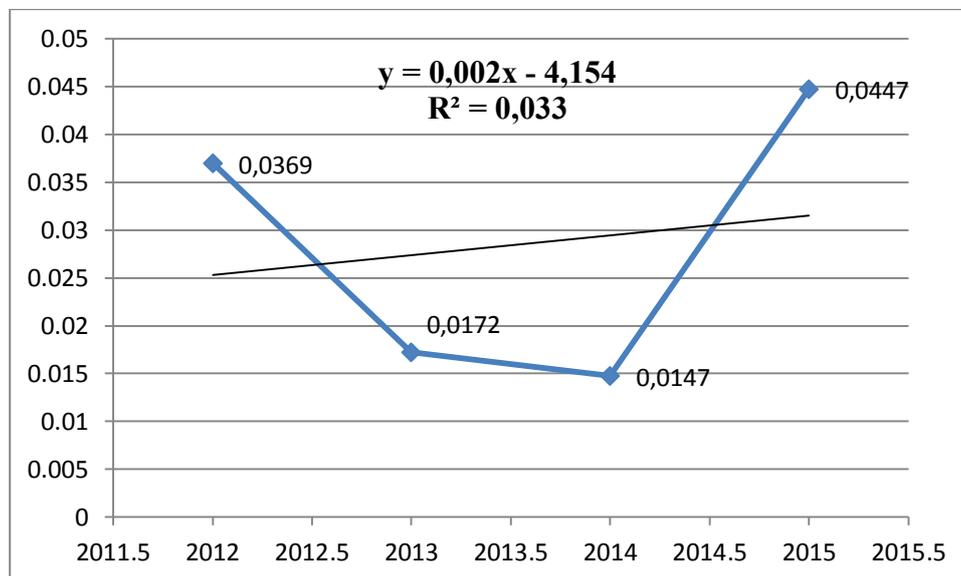


Figure 36 : prévalence des donneurs exclus cliniques

La prévalence chez des donneurs du sang exclus cliniquement a diminué de 3.69% en 2012 à 1.47% en 2014 et augmenté à 4.47% en 2015.

Elle a été sensiblement égale du 2012 à 2014. La tendance dans le temps a été retrouvée également augmenté. La seule prévalence des donneurs exclus cliniques était plus élevée celle de l'année 2015 (Figure 36).

## 2.2.2. La séroprévalence des maladies virales

### 2.2.2.1. Prévalence du VHB

Prévalence du VHB =  $\frac{\text{population des donneurs exclus sérologiques (VHB)}}{\text{Population des donneurs aptes cliniquement}}$

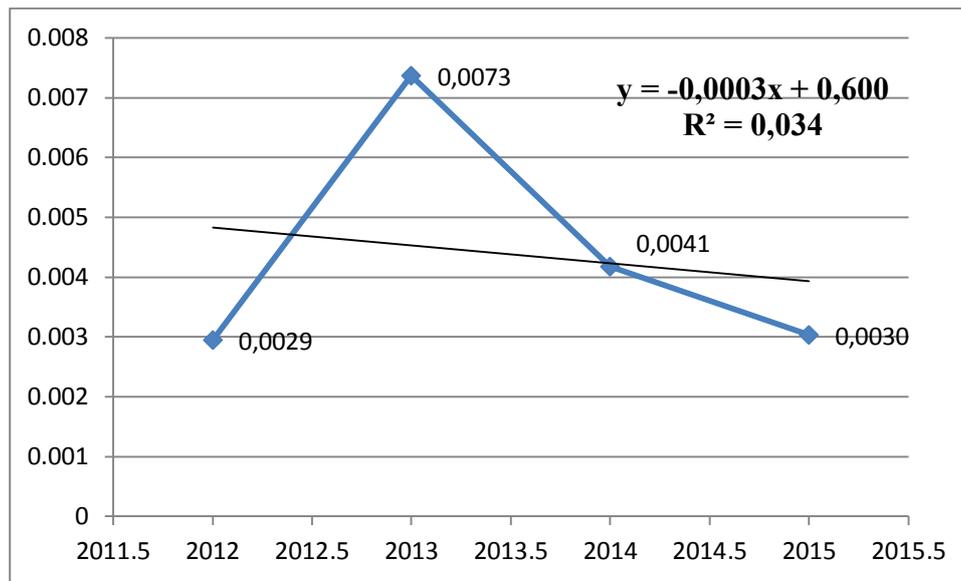


Figure 37 : prévalence du VHB

La prévalence chez des donneurs du sang exclus sérologiques qui sont atteints du VHB a augmenté de 2.95‰ en 2012 à 7.36‰ en 2013 et diminué à 3.03‰ en 2015.

On note une émergence de VHB à 7.36 ‰ en 2013 comparativement avec le reste des années. La tendance dans le temps a été trouvée faiblement diminuée. (Figure 37)

### 2.2.2.2. Prévalence du VHC

Prévalence du VHC =  $\frac{\text{population des donneurs exclus sérologiques (VHC)}}{\text{Population des donneurs aptes cliniquement}}$

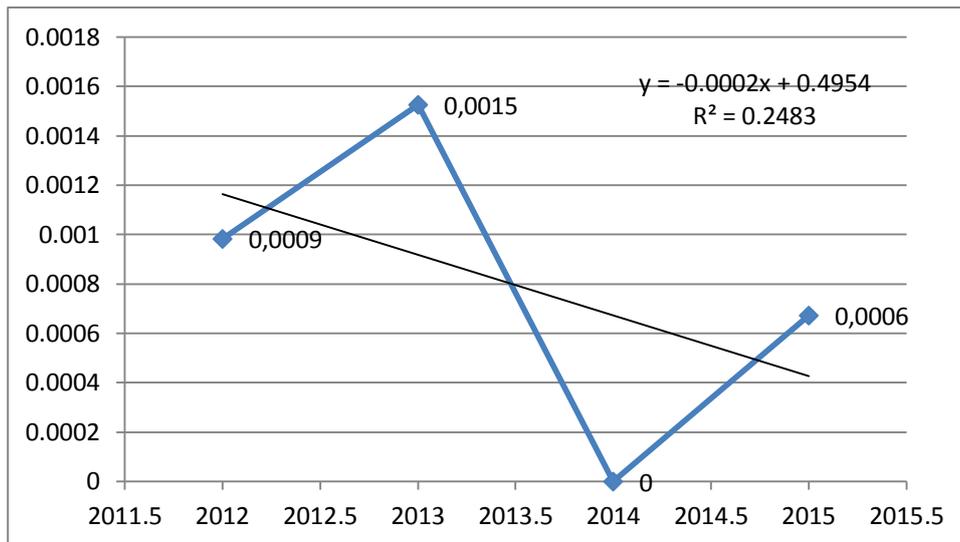


Figure 38 : prévalence du VHC

La prévalence chez des donneurs du sang exclus sérologiques qui sont atteint du VHC à une augmentation partielle de 0.98 ‰ en 2012 à 1.52 ‰ en 2013 et de 0‰ en 2014 à 0.67 ‰ en 2015. On observe une prévalence du VHC nulle en 2014.

La tendance dans le temps a été également diminuée (Figure 38).

### 2.2.2.3. Prévalence du VIH, VHB et VHC

La prévalence du VIH, VHB et VHC =  $\frac{\text{exclus VIH} + \text{exclus VHB} + \text{exclus VHC}}{\text{Population des donneurs aptes cliniquement}}$

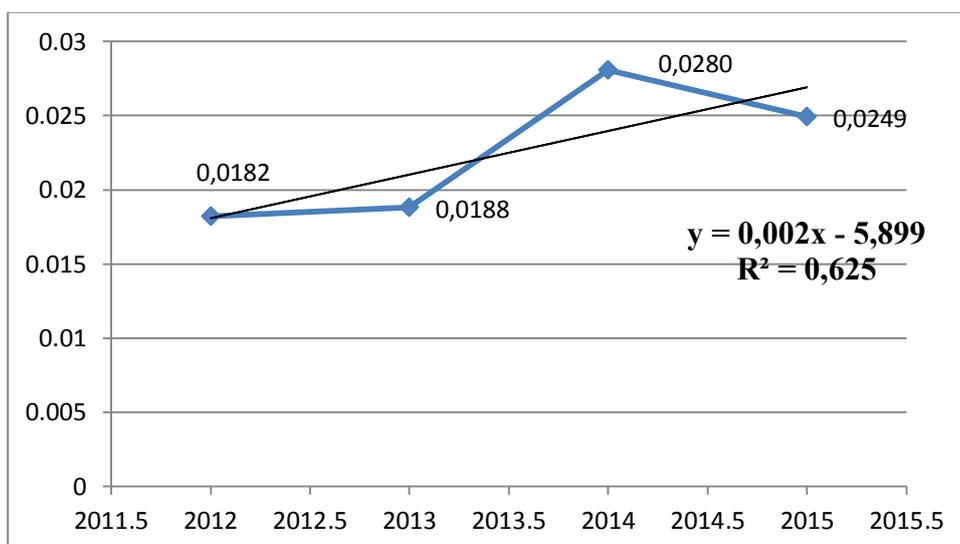


Figure 39 : La prévalence du VIH, VHB et VHC

La séroprévalence des l'infections (VIH, VHB et VHC) chez les donneurs du sang exclus sérologiques a été augmenté d'une année à une autre, allant de 1.82% en 2012 à 2.49% en 2015. La tendance a été également augmentée dans le temps (Figure 39).

### 2.3. Analyse factorielle

L'analyse factorielle est une technique statistique aujourd'hui surtout utilisée pour dépouiller des enquêtes : elle permet, quand on dispose d'une population d'individus pour les quelles on possède de nombreux renseignements concernant les opinions, les pratiques et le statut (sexe, âge, etc.), d'en donner une représentation géométrique, c'est-à-dire en utilisant un graphique qui permet de voir les rapprochements et les oppositions entre les caractéristiques des individus (69).

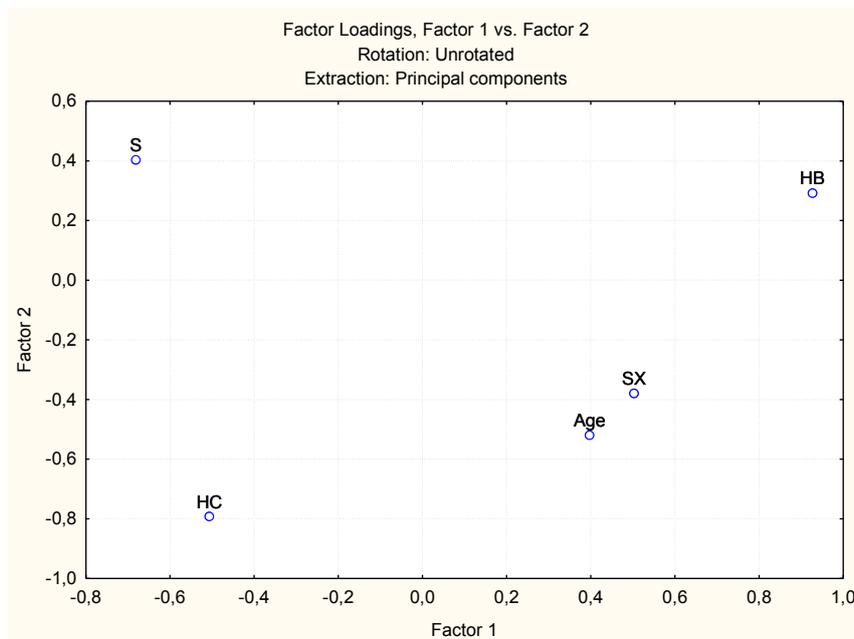


Figure 40 : Analyse factorielle des exclus séropositifs (2012, 2013, 2014, 2015)

Dans le cas globale des exclus séropositifs pendant (2012, 2013, 2014, 2015). Il ya une association entre les deux paramètres âge et sexe mais il n'ya pas une association entre les Maladies (HB, HC et S) et les autres paramètres (âge et sexe).

## 2.4. Analyse factorielle des correspondances

L'analyse factorielle des correspondances vise à rassembler en un nombre réduit de dimensions la plus grande partie de l'information initiale en s'attachant non pas aux valeurs absolues mais aux correspondances entre les variables, c'est-à-dire aux valeurs relatives. Cette réduction est d'autant plus utile que le nombre de dimensions initial est élevé. La notion de "réduction" est commune à toutes les techniques factorielles – c'est-à-dire où l'on extrait des facteurs – l'AFC offre la particularité de fournir un espace de représentation commun aux variables et aux individus. Pour cela l'AFC raisonne à partir de tableau réduit (67).

Dans notre enquête, on utilise la matrice des donneurs exclus séropositifs par (HB, HC et S) pour déterminer l'analyse factorielle des correspondances en (2012, 2013, 2014, 2015) (Tableau 15).

Tableau 15 : matrice des donneurs exclus séropositifs par (HB, HC et S)

Année \ Maladies	2012	2013	2014	2015	Somme 2
HB	12	29	11	9	61
HC	4	6	0	2	12
S	1	3	4	4	12
Somme 1	17	38	15	15	85

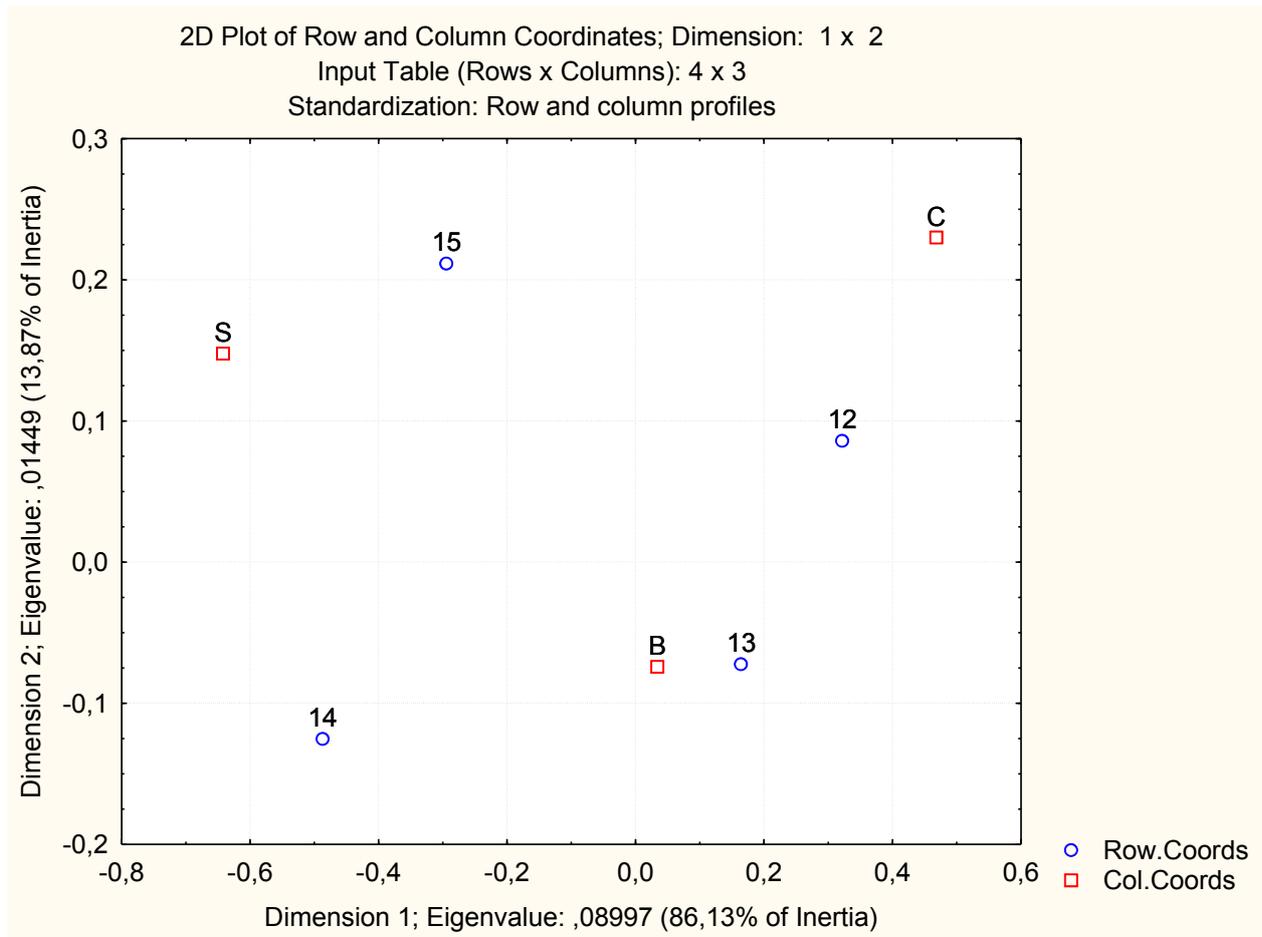


Figure 41 : Analyse Factorielle des Correspondances

Ainsi, on voit que :

- \* l'année 2013 se manifeste par une tendance à HB
- \* Une faible tendance de la S vis-à-vis 2015
- \* Pas d'association entre le reste des années et maladies.

### 3. Discussion

Notre étude présente des limites. Les kits Détermine Ag HBs, Ac anti HCV et Ac anti HIV1-2 peuvent donner des faux positifs et des faux négatifs.

Et comme les sera réactifs dans notre étude n'ont pas été confirmés par une autre technique, nos résultats ont pu être sous-estimés ou surestimés. Une technique de confirmation devrait être ajoutée au protocole si on utilise les tests rapides. Elle devrait avoir une sensibilité supérieure ou égale à 99% .

### 3.1. Interprétation des résultats de sexe ratio

Dans notre enquête, l'implication des femmes aux différentes populations étudiées est faible que les hommes, à partir des causes : sociologiques, les lieux de collecte (mosquée, entreprise...)

D'après nos résultats Ilya une évolution du nombre des femmes en 2014 et 2015 cela est du collecte mobile au cités universitaires et facultés.

En vu que la tranche d'âge [18-27] était la plus élevée pour femme et homme à cause de : l'état de santé, les lieux de collecte ...

### 3.2. Interprétation des résultats de prévalence

- \* À partir de notre enquête, on a une faible prévalence des maladies virales (1.82% en 2012, 1.88% en 2013, 2.80% en 2014, 2.49% en 2015). Les raisons de faiblesse :
  - en se trouve dans des zones où la maladie a plus d'impact.
  - La population ciblée et période d'enquête sont limitées.
- \* Malgré on obtenu la prévalence du VIH est 0.0001, il y a un risque de transmission de l'infection (le risque 0 n'existe pas).
- \* La prévalence est la plus élevée à cause du nombre élevé des cas qui sont atteints du virus.

## 4. Conclusion

Vu de la faiblesse des effectifs, pour ce type d'étude il faut travailler dans une échelle plus grande pour un DP 1 plus grand, malgré la prévalence des séropositifs est faible, il devrait être augmenté les précautions pour réduire la transmission des maladies virales est assurée la transfusion sanguine.

**CONCLUSION**

## 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 à 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 (70).

**RESUME**

## **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**

## Référence :

- (1). centre national de transfusion sanguine. Aide mémoire de promotion du don de sang.2000 :9p.
- (2). Ministère de la Santé. La loi n° 03-94 relative au don, au prélèvement et à l'utilisation du sang humain.
- (3). Agence National du sang. Rapport d'activité de la transfusion sanguine(2014) <http://www.ans.dz/images/PDF/bilan%20ANS%202014.pdf>
- (4). Ministère de la santé. Décret n094-340/ Pres /M S portant réglementation de la transfusion sanguine au Burkina Faso. *Ouagadougou* 1994:3p.
- (5). Bruno Danic. Établissement français du sang .Revu française de laboratoire. France .septembre 2003 :P. 8-74
- (6). Cagnard JP. La transfusion sanguine au service de la santé. Paris: 1980:32p.
- (7). Ministère de la Santé. La loi n° 03-94 relative au don, au prélèvement et à l'utilisation du sang humain
- (8). Ministère de la santé, de l'action sociale et de la famille. Rapport du séminaire sur la réglementation de la transfusion sanguine au Burkina-Faso. *Ouagadougou* 1993: 1Bp.
- (9). Transfusion. Site fixe. [www.toutsurlatransfusion.com](http://www.toutsurlatransfusion.com). [En ligne] juillet 2012.[http://www.toutsurlatransfusion.com/dondusang/don-du\\_sang\\_/collecte mobile](http://www.toutsurlatransfusion.com/dondusang/don-du_sang_/collecte_mobile).
- (10). Guidoum Y. Agence Nationale du Sang. Transfusion sanguine.2ème édition. (1998).

- (11). Pilly, E. *Maladies Infectieuses et Tropicales*. s.l. CMIT, 2010.  
9782916641294
- (12). Gerard C., Sondag-Thull D., Watson-Williams E-J., Fransen L. Sécurité transfusionnelle dans les pays en développement. Principes et organisation. Commission Européenne, ECSC-EC-EAC, Bruxelles, 1997
- (13). Bonnes pratiques de qualification biologique du don : arrêté du 4 janvier 1995, JO du 31 janvier 1995. Arrêté du 16 juillet 1998, JO du 29 juillet 1998. Arrêté du 11 août 1995, JO du 2 septembre 1995. Arrêté du 22 juillet 1996, JO 25 juillet 1996.
- (14). Corash L. Inactivation of viruses, bacteria, protozoa and leukocyte in platelet and red cell concentrates. *Vox Sang* 2000 ; 78 (suppl 2) : 205-210
- (15). Mollison PL, Engelfriet CP, Contreras M. Blood transfusion in clinical medicine. Oxford : Blackwell Science, 1997.
- (16). Salmon C, Cartron JP, Rouger P. Les groupes sanguins chez l'homme. Paris : Masson, 1991.
- (17). Daniels G. Human blood groups. Oxford:Blackwell Science. 1995.
- (18). transfusion de globules rouges homologues : produits, indications, alternatives recommandations agence française de sécurité sanitaire des produits de santé. août 2002 ; 4p 31
- (19). Docteur Hervé Gouëzec, Correspondant d'hémovigilance, Unité de sécurité transfusionnelle et d'hémovigilance, CHU Rennes, 2 rue Henri Le Guilloux, 35033 RENNES Cedex, Email : herve.gouezec@chu-rennes.fr.
- (20). G.Andreu, JM Boiron, O Garraud, JJ Lefrère .Transfusion sanguine. *Hématologie*. 2008 ; 14 (1) : 65-89

- (21). Gervais, Talbert - Willoquet -. *Guide Pharmaco Clinique*. s.l. : Wolters Kluwer France , 2011. 978-2-915585-95-7.
- (22). AFSSAPS (Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé). Transfusion de globules rouges : produits, indications, alternatives. *Transfus Clin Biol* 2002 ; 9 : 333-356.
- (23). Hématologie .La distribution et la délivrance Transfusion des produits sanguins labiles Distribution and delivery Francis Roubinetof labile blood products. Vol. 16, n° 4, juillet-août 2010.
- (24). Pol N, Segondy M .Decembre (2006) .Maladies Virales, *Medecine/sciences* vol.19 ; p.264-292
- (25). Organisation mondiale de la santé. Thèmes de santé, Hépatite - Hépatite B, OMS.[www.who.int](http://www.who.int).
- (26). Handra-Luca A ; Tengher L ; Ziol M., Aspects Histopathologiques des Infections à Virus Hépatotropes. *Revue Francophone des Laboratoires* 2 007 ; 388 : 41-48.
- (27). Eric Odenheimer ; Beat Mullhaupt ; Andreas Cerny., *L'hépatite B: 50 questions et réponses*, 2e édition 2012.
- (28). Eugène C, Costentin L, Beaulieu S, (2004) .*Les hépatites virales* ,2ème édition, MASSON. (Consulté le : 30 mai 2012).
- (29). 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, a la veille de la journée nationale des hépatites qui est célébrée le 12 janvier de chaque année.

- (30). Schaefer S., Hepatitis B virus taxonomy and hepatitis B virus genotypes. World Journal of Gastroenterology 2007; 13: 14-21.
- (31). Ayari R ; Gorgi Y ; Aouadi H ; Ayed-Jendoubi S ; Ayed K., La PCR dans la détection de l'ADN du virus de l'hépatite B : choix des amorces. Immuno-analyse et biologie spécialisée 2006; 21: 308–313.
- (32). Hilmer J K , Zlotnick A , B othner B ., Conformational Equilibria and Rates of Localized Motion within Hepatitis B Virus Capsids.J.Mol.Biol. 2008 ;375 : 581-594.
- (33). Ben Slama N, Si Ahmed SN, Zoulim F., Quantification de l'antigène HBs : signification virologique. Gastroentérologie Clinique et Biologique, 2010 ; 34 : 112-118.
- (34). Zoulim F , Lucifora J , Arzberger S ., Hépatite B virus X protein is required for productive infection of humain hepatocytes. Journal of Hepatology. 2010 ; 52: 43-54.
- (35). Blumberg B S., Encyclopédie Microsoft Encarta , 2003, Product ID: 59578- OEM-1207047- 69207. Version: 12.0.0.O602.
- (36). Wagner A ; Denis F ; Ranger-Rogez., Génotype du virus de l'hépatite B. Immuno-analyse et Biologie spécialisée 2004 ; 19 : 330-342.
- (37). Mostefaoui Mohamed Amine ., Les hépatites virales B et C. 2013-2014.
- (38). ZEBA Tokéda Abdoul Moctar ., Co-infection des virus des hépatites B et C au Burkina .,2012 , p.26-51,52-56.

(39). Segondy M., Infections virales sexuellement transmissible, 2003. Guides Médi/Bio, Edition Elsevier Masson, 206 p.

(40). Florence Nicot., Variabilité génétique du virus de l'hépatite c et persistance virale, Thèse en vue de l'obtention du doctorat de l'université de Toulouse ., 13 juillet 2010, P7-8-21-22.

(41). Pawlotsky J.M ., Le virus de l'hépatite C, 2002.

(42). Scarselli, E ; H. Ansuini., The human scavenger receptor class B type I is a novel candidate receptor for the hepatitis C virus ., 2002 , Embo J 21(19): 5017-25.

(43). Pileri, P ; Y. Uematsu., Binding of hepatitis C virus to CD81., 1998 , Science 282(5390): 938-41.

(44). Evans, M. J; T. von Hahn., Claudin-1 is a hepatitis C virus co receptor required for a late step in entry ., 2007 , Nature 446(7137): 801-5.

(45). Miyanari, Y; K. Atsuzawa., The lipid droplet is an important organelle for hepatitis C virus production, 2007, Nat Cell Biol 9(9): 1089-97.

(46). Huang, Z; M. G. Murray., Recent development of therapeutics for chronic HCV infection, 2006, Antiviral Res 71(2-3): 351-62.

(47). Timpe, J. M ; Z. Stamataki., Hepatitis C virus cell-cell transmission in hepatoma cells in the presence of neutralizing antibodies , 2008 , Hepatology 47(1): 17-24.

- (48). Flint, M ; C. Maidens., Characterization of hepatitis C virus E2 glycoprotein interaction with a putative cellular receptor, CD81 ., 1999 , J Virol 73(8): 6235.
- (49). Owsianka, A. M ; J. M. Timms., Identification of conserved residues in the E2 envelope glycoprotein of the hepatitis C virus that are critical for CD81 binding., 2006 , J Virol 80(17): 8695-704.
- (50). Lavillette, D ; E. I. Pecheur., Characterization of fusion determinants points to the involvement of three discrete regions of both E1 and E2 glycoproteins in the membrane fusion process of hepatitis C virus , 2007 , J Virol 81(16): 8752-65.
- (51). Coffin JM. Structure and classification of retroviruses. In: Levy JA, editor. *The retroviridae*. New York: Plenum Press; 1992. p. 19-50.
- (52). Pilly E. Maladies infectieuses et tropicales .Vivactis Plus (2010).
- (53). Gueudin M, Simon F, Septembre. Advantages and Limits in quantification of HIV -DNA. Comparaison of proviral DNA in HIV -1 and HIV -2 .Antibiotiques (2007); p9 (3):199-203.
- (54). Mammano F, Labrosse B..E volution du tropisme des populations virales dans L histoire naturelle de l infection par le VIH .Virologie (2010) ; p 11 :95-106.
- (55). Ratner R.. HIV life cycle and genetic approaches .Perspective in drug discovery and design (2010); p 1:3-22.

(56). Leonard JT and Roy K ;The HIV entry inhibitors revisited. (2006). *Curr Med Chem* 13(8): 911-34.

(57). Wilkin TJ, Su Z, Kuritzkes DR, Hughes M, Flexner C, Gross R, Coakley E, Greaves W, Godfrey C, Skolnik PR, Timpone J, Rodriguez B, Gulick RM ;"HIV type 1 chemokine coreceptor use among antiretroviral-experienced patients screened for a clinical trial of a CCR5 inhibitor: AIDS Clinical Trial Group A5211." *Clin Infect Dis*; (2007). 44(4): 591-5.

(58). Vossenkämper A, Macdonald TT, Marchès O ;Always one step ahead: How pathogenic bacteria use the type III secretion system to manipulate the intestinal mucosal immune system. *J Inflamm (Lond)*; (2011). 8: 11.

(59). Biancotto A, Iglehart SJ, Vanpouille C, Condack CE, Lisco A, Ruecker E, Hirsch I, Margolis LB, Grivel JC ;HIV-1 induced activation of CD4+ T cells creates new targets for HIV-1 infection in human lymphoid tissue ex vivo. (2008) *Blood* 111(2): 699-704.

(60). Hladik F and McElrath MJ ;Setting the stage: host invasion by HIV. (2008). *Nat Rev Immunol* 8(6): 447-57.

(61). Izquierdo-Useros N, Blanco J, Erkizia I, Fernández-Figueras MT, Borràs FE, Naranjo- Gómez M, Bofill M, Ruiz L, Clotet B, Martinez-Picado J. Maturation of blood- derived dendritic cells enhances human immunodeficiency virus type 1 capture and transmission. (2007). *J Virol* 81(14): 7559-70.

(62). Horvart T , Tegtmeyer G.E.(2011) .Hepatitis B and D Viirues .Versalovic J,rédacteur .Manual of clinical microbiology .10 eme edition .Washington DC : ASM Press ;p .1646 -53.

- (63). Trépo C, Merle P, Zoulim F,.Hépatites virales B et C, Pathologie Sciences ; (2006).
- (64). Gottlieb M.S..Pneumocystis –Los Angeles .American of journal public health; (1981). P 96:980 -1; discussion 982 – 3.
- (65). Farhi D, Dupin N . 10 avril Diagnostic sérologique de la siphilis . Service de dermathologie et de vénéréologie ; pavillon Tarnier ; hopital Cochin ; Paris ; France ; (2008).
- (66) .Nguyen T ,Desmond P ,Locarnini S ,The role of quantitative hépatites B serology in the naturalhistory and management of chronichepatitis B.Hepatollnt 2011 ; 3 : S5-S15 .
- (67).Bernaudin S ,Chaleyssin L, Manon E ,Ndoye M ,La detection du VHB grace au test ELISA , Le 08 /12/2014.
- (68). Incidence of vertebral fracture in Europe : results from the European Prospective Osteoporosis Study (EPOS). J Bone Miner Res. 2002 ; 17 : 716-24
- (69). Philippe Cibois , Principe de l'analyse factorielle – St-Quentin Version novembre .2006
- (70). Olivier Bloudot ,Télémaque coll .(2008).Mémoires d'hommes transfusion sanguine .Une grande aventure humaine.

## Références des figures :

### Figure 13

**Tsega E, Mengesha B, Nordenfelt E, Hansson BG, Lindberg J.** Prevalence of hepatitis B virus markers among Ethiopian blood donors: is HBsAg screening necessary; Trop Geogr Med. 2005 Oct; 39(4):336-40. UNAIDS(2005).  
[www.unaids.org/documents/20101123\\_2010\\_VHBPrevalence\\_Map](http://www.unaids.org/documents/20101123_2010_VHBPrevalence_Map) .

### Figure 14 et 15

29. **A. Mammette.**, Virologie médicale, Presses universitaires de Lyon. P.D. 2002.

### Figure 16

95. **Dény P, Zoulim F.**, Hepatitis B virus: From diagnosis to treatment. Pathologie Biologie. 2010 ; 58 : 245–253.

### Figure 17

68. . **Zoulim F.**, Hépatites Virales B Et C Editeur : John Libbey Eurotext. Collection : Pathologie Science Formation Parution : 30/11/2006 ; Nombre de pages : 246

### Figure 18 et 19

94. **Mostefaoui Mohamed Amine .**, Les hépatites virales B et C ., 2013-2014.

### Figure 20

**Vardas, E., Sitas, F., Seidel, K., Casteling, A. & Sim, J. (1997)** Prevalence of hepatitis C virus antibodies and genotypes in asymptomatic, first-time blood donors in Namibia. Bulletin of the World Health Organization, 77, 965–972.  
Organisation Mondiale de la santé (OMS) .Aide-mémoire N°164, Révisé en Octobre 1997 [www.repartition.geo](http://www.repartition.geo) [http:// www.Who. int/ inf-fs/ fv/ am 164.html](http://www.Who.int/inf-fs/fv/am164.html).

### **Figure 21**

97. **Dr Felix Agbalika .**, Infection par les virus des hépatites B, (Delta), C., 2014 , Université Paris 7 .

### **Figure 22**

54. **ZEBA Tokéda Abdoul Moctar .**, Co-infection des virus des hépatites B et C au Burkina ,2012 , p.26-51,52-56.

### **Figure 23**

66. **Boonstra, A ; L. J. van der Laan.,** Experimental models for hepatitis C viral infection , 2009 , Hepatology **50**(5): 1646-55.

### **Figure 24**

**Alter M ,Kruszon- Moran D, Nainan OV** et al. The prevalence of VIH Nature 341:556-62(27 mai 2005).ONUSIDA/OMS « Le point dur l'épidémie de SIDA», décembre **2005**

### **Figure 25**

**Peterlin p et trono T.** 2003 l agence de la santé publique du canada.

### **Figure 26**

**Assal A., Coste J., Barlet V.**expert reviews in molecular medecine :

<http://www.museum-grenoble.fr> /Accession information :Vol .5.19 Novembre 2001.

**Figure 27**

**Sanao** .National Institute of Allergy and Infection Diseases ;Processus d  
attachement du VIH .(En ligne ). [http://www.niaid.nih.gov/daids/dtpdb/attach](http://www.niaid.nih.gov/daids/dtpdb/attach.asp)  
.asp .1 July 2007 .

**Figure 28**

**Blumberg B S.**, Encyclopédie Microsoft Encarta , 2003, Product ID: 59578-  
OEM-1207047- 69207. Version: 12.0.0.O602.

**Figure 29**

<http://www.lyc-talma-brunoy.ac-versailles.fr/spip.php?article115>

# **ANNEXES**

# Annexes

## A

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

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

## C

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

## G

**Le génome :** est l'ensemble du matériel génétique d'un organisme. Il contient à la fois les séquences codantes, c'est-à-dire celles qui codent pour des protéines, et les séquences non codantes. Chez la majorité des organismes, le génome correspond à l'ADN présent dans les cellules. Cependant, chez certains virus appelés rétrovirus (par exemple le VIH), le matériel génétique est de l'ARN. L'ADN est souvent comparé à un livre dont le langage est constitué de quatre bases azotées, également appelées nucléotides : l'adénine, la cytosine, la guanine et la thymine (A, C, G, T). La manière dont ces bases sont organisées constitue le code génétique. Ce dernier peut être lu par la machinerie cellulaire, qui peut le transcrire en ARN puis en protéines. Le séquençage de l'ADN permet de connaître l'enchaînement des nucléotides et de cartographier le génome. La taille du génome est très variable en fonction des organismes. Elle varie de quelques milliers à plusieurs millions de paires de bases. Le Projet génome humain, lancé en 1990, a permis le séquençage de l'ADN humain, composé d'environ 3,4 milliards de nucléotides. On dénombre à ce jour près de 25.000 gènes chez l'Homme.

## H

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

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

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

## I

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

## L

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

## P

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

## R

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

## T

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

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

## V

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

Année universitaire : 2015/2016

Présenté par :

**Bousmaha Fella  
Hannache imen**

**THEME : *Dépistage et prévalence des maladies virales endémiques sur le don du sang au centre de transfusion sanguine sidi mabrouk Constantine***

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en  
Biochimie Moléculaire et Santé

**RESUME**

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

La sécurité transfusionnelle quant a elle est l' ensemble des mesures visant a éliminer les risques liés a la transfusion .La sécurité transfusionnelle concerne toutes les étapes de la chaine de transfusion qui va du donneur au receveur et a son suivi post – transfusionnel .Elle repose sur les différentes stratégies qui vont de la sélection du donneur a 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 a 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 sur, en qualité suffisante, après 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.

**Mots clés :** ELISA, DIAGNOSTIC, SEROLOGIE, PREVALENCE, TRANSFUSION SANGUINE, DON DU SANG, PSL

**Laboratoire de recherche :** *centre de transfusion sanguine sidi mabrouk (SMK)  
Constantine*

Jury d'évaluation :

<b>Président du jury :</b>	<b>Mr. ZITOUNI N</b>	(MC A - UFM Constantine)
<b>Rapporteur :</b>	<b>Mr. HAFI A</b>	(MC A- UFM Constantine)
<b>Examineurs :</b>	<b>Mr. HAMEDCHI M.A</b>	(Professeur- UFM Constantine)

**Date de soutenance :** 04/06/2016

