# MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

### REPUBLIQUE DE COTE D'IVOIRE UNION – DISCIPLINE – TRAVAIL



N°.....

Année: 2017 - 2018

# **THESE**

Présentée en vue de l'obtention du

# DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Par

# **COULIBALY MABRAKISSA**

# **Evaluation de test**

Immunoenzymatique Dia.pro® (Diagnostic Bioprobes) pour le diagnostic de l'hépatite B sur support DBS.

Soutenue publiquement le.....

### **COMPOSITION DU JURY:**

Président : Madame AKE Michèle, Professeur Titulaire

Directeur de thèse : Monsieur INWOLEY Kokou André, Professeur Titulaire

Assesseurs : Madame SANGARE Tigori Béatrice, Maître de conférences agrégé

: Monsieur DJOHAN Vincent, Maître de conférences agrégé

# ADMINISTRATION ET PERSONNEL ENSEIGNANT DE L'UFR SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES

#### I. HONORARIAT

Directeurs/Doyens Honoraires : Professeur RAMBAUD André

Professeur FOURASTE Isabelle

Professeur BAMBA Moriféré

Professeur YAPO Abbé †

Professeur MALAN Kla Anglade

Professeur KONE Moussa †

Professeur ATINDEHOU Eugène

#### II. ADMINISTRATION

Directeur Professeur KONE-BAMBA Diénéba

Sous-Directeur Chargé de la Pédagogie Professeur Ag. IRIE-N'GUESSAN A.G.

Sous-Directeur Chargé de la Recherche Professeur Ag. DEMBELE Bamory

Secrétaire Principal Madame NADO-AKPRO Marie Josette

Documentaliste Monsieur N'GNIMMIEN Koffi Lambert

Intendant Monsieur GAHE Alphonse

Responsable de la Scolarité Madame DJEDJE Yolande

#### III. PERSONNEL ENSEIGNANT PERMANENT

#### 1- PROFESSEURS TITULAIRES

M. ABROGOUA Danho Pascal Pharmacie Clinique

Mmes AKE Michèle Chimie Analytique, Bromatologie

ATTOUNGBRE HAUHOUOT M.L. Biochimie et Biologie Moléculaire

MM. DANO Djédjé Sébastien Toxicologie

GBASSI K. Gildas Chimie Physique Générale

INWOLEY Kokou André Immunologie

Mme KONE BAMBA Diéneba Pharmacognosie

M. KOUADIO Kouakou Luc Hydrologie, Santé Publique

Mme KOUAKOU-SIRANSY Gisèle Pharmacologie

MM. MALAN Kla Anglade Chimie Ana., contrôle de qualité

MENAN Eby Ignace Parasitologie - Mycologie

MONNET Dagui Biochimie et Biologie Moléculaire

Mme SAWADOGO Duni Hématologie

M. YAVO William Parasitologie - Mycologie

#### 2- MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

M. AHIBOH Hugues Biochimie et Biologie moléculaire

Mme AKE-EDJEME N'guessan Angèle Biochimie et Biologie moléculaire

MM. AMARI Antoine Serge G. Législation

AMIN N'Cho Christophe Chimie analytique

BONY François Nicaise Chimie Analytique

DALLY Laba Ismael Pharmacie Galénique

DEMBELE Bamory Immunologie

DJOHAN Vincent Parasitologie -Mycologie

Mme IRIE-N'GUESSAN Geneviève Pharmacologie

M. KOFFI Angely Armand Pharmacie Galénique

Mme KOUAKOU-SACKOU Julie Santé Publique

MM. KOUASSI Dinard Hématologie

LOUKOU Yao Guillaume Bactériologie-Virologie

OGA Agbaya Stéphane Santé publique et Economie de la santé

OUASSA Timothée Bactériologie-Virologie

OUATTARA Mahama Chimie organique, Chimie thérapeutique

SANGARE TIGORI Béatrice Toxicologie

MM. YAPI Ange Désiré Chimie organique, chimie thérapeutique

ZINZENDORF Nanga Yessé Bactériologie-Virologie

### **3- MAITRES-ASSISTANTS**

MM. ADJAMBRI Adia Eusebé Hématologie

ADJOUNGOUA Attoli Léopold Pharmacognosie

Mmes ABOLI-AFFI Mihessé Roseline Immunologie

AKA ANY-GRAH Armelle Adjoua S. Pharmacie Galénique

ALLA-HOUNSA Annita Emeline Santé Publique

M. ANGORA Kpongbo Etienne Parasitologie - Mycologie

Mmes AYE-YAYO Mireille Hématologie

BAMBA-SANGARE Mahawa Biologie Générale

BARRO-KIKI Pulchérie Parasitologie - Mycologie

MM. CABLAN Mian N'Dedey Asher Bactériologie-Virologie

CLAON Jean Stéphane Santé Publique

Mmes BLAO-N'GUESSAN Amoin Rebecca J. Hématologie

DIAKITE Aïssata Toxicologie

DONOU-N'DRAMAN Aha Emma Hématologie

M. EFFO Kouakou Etienne Pharmacologie

Mme FOFIE N'Guessan Bra Yvette Pharmacognosie

MM. KABRAN Tano Kouadio Mathieu Immunologie

KASSI Kondo Fulgence Parasitologie-Mycologie

Mme KONAN-ATTIA Akissi Régine Santé publique

M. KONAN Konan Jean Louis Biochimie et Biologie moléculaire

Mme KONATE Abibatou Parasitologie-Mycologie

M. KOUAME Dénis Rodrigue Immunologie

Mme KOUASSI-AGBESSI Thérèse Bactériologie-Virologie

MM. KPAIBE Sawa André Philippe Chimie Analytique

MANDA Pierre Toxicologie

N'GUESSAN Alain Pharmacie Galénique

Mme VANGA-BOSSON Henriette Parasitologie-Mycologie

M. YAYO Sagou Eric Biochimie et Biologie moléculaire

#### 4- ASSISTANTS

MM. ADIKO Aimé Cézaire Immunologie

AMICHIA Attoumou Magloire Pharmacologie

Mmes AKOUBET-OUAYOGODE Aminata Pharmacognosie

ALLOUKOU-BOKA Paule-Mireille Législation

TAHOU-APETE Sandrine Bactériologie-Virologie

BEDIAKON-GOKPEYA Mariette Santé publique

MM. BROU Amani Germain Chimie Analytique

BROU N'Guessan Aimé Pharmacie clinique et thérapeutique

COULIBALY Songuigama Chimie organique, chimie thérapeutique

DJADJI Ayoman Thierry Lenoir Pharmacologie

# Evaluation de test Immunoenzymatique Dia.pro® (Diagnostic Bioprobes) pour le diagnostic de l'hépatite B sur support DBS.

DJATCHI Richmond Anderson Bactériologie-Virologie

Mmes DOTIA Tiepordan Agathe Bactériologie-Virologie

KABLAN-KASSI Hermance Hématologie

MM. KACOU Alain Chimie organique, chimie thérapeutique

KAMENAN Boua Alexis Thierry Pharmacie clinique et thérapeutique

KOFFI Kouamé Santé publique

KONAN Jean Fréjus Biophysique

Mme KONE Fatoumata Biochimie et Biologie moléculaire

MM. KOUAHO Avi Kadio Tanguy Chimie organique, chimie thérapeutique

KOUAKOU Sylvain Landry Pharmacologie

KOUAME Jérôme Santé publique

Mme KRIZO Gouhonon Anne-Aymonde Bactériologie-Virologie

MM. LATHRO Joseph Serge Bactériologie-Virologie

MIEZAN Jean Sébastien Parasitologie-Mycologie

N'GBE Jean Verdier Toxicologie

N'GUESSAN Déto Ursul Jean-Paul Chimie organique, chimie thérapeutique

Mmes N'GUESSAN Kakwokpo Clémence Pharmacie Galénique

N'GUESSAN-AMONKOU Anne Cynthia Législation

ODOH Alida Edwige Pharmacognosie

SIBLI-KOFFI Akissi Joëlle Biochimie et Biologie moléculaire

SICA-DIAKITE Amelanh Chimie organique, chimie thérapeutique

TANOH-BEDIA Valérie Parasitologie-Mycologie

M. TRE Eric Serge Chimie Analytique

Mme KOUASSI-TUO Awa Pharmacie Galénique

M. YAPO Assi Vincent De Paul Biologie Générale

Mme YAPO-YAO Carine Mireille Biochimie

#### 5- CHARGES DE RECHERCHE

Mmes ADIKO N'dri Marcelline Pharmacognosie

OUATTARA N'gnôh Djénéb Santé publique

6- ATTACHE DE RECHERCHE

M. LIA Gnahoré José Arthur Pharmacie Galénique

7- IN MEMORIUM

Feu KONE Moussa Professeur Titulaire

Feu YAPO Abbé Etienne Professeur Titulaire

Feu COMOE Léopold Maître de Conférences Agrégé

Feu POLNEAU-VALLEE Sandrine Maître de Conférences Agrégé

Feu GUEU Kaman Maître Assistant

Feu ALLADOUM Nambelbaye Assistant

Feu COULIBALY Sabali Assistant

Feu TRAORE Moussa Assistant

Feu YAPO Achou Pascal Assistant

### IV. ENSEIGNANTS VACATAIRES

#### 1- PROFESSEURS

M. DIAINE Charles Biophysique

OYETOLA Samuel Chimie Minérale

### 2- MAITRES DE CONFERENCES

M. KOUAKOU Tanoh Hilaire Botanique et Cryptogamie

YAO N'Dri Athanase Pathologie Médicale

#### 3- MAITRE-ASSISTANT

M. KONKON N'Dri Gilles Botanique, Cryptogamie

# Evaluation de test Immunoenzymatique Dia.pro® (Diagnostic Bioprobes) pour le diagnostic de l'hépatite B sur support DBS.

### 4- NON UNIVERSITAIRES

MM. AHOUSSI Daniel Ferdinand Secourisme

COULIBALY Gon Activité sportive

DEMPAH Anoh Joseph Zoologie

GOUEPO Evariste Techniques officinales

Mme KEI-BOGUINARD Isabelle Gestion-Comptabilité

MM KOFFI Alexis Anglais

KOUA Amian Hygiène

KOUASSI Ambroise Management

AHOUSSI Ferdinand Secourisme

KONAN Kouacou Diététique

Mme PAYNE Marie Santé Publique

# COMPOSITION DES DEPARTEMENTS DE L'UFR SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES

# I. BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE

Professeurs LOUKOU Yao Guillaume Maître de Conférences Agrégé

Chef de département

OUASSA Timothée Maître de Conférences Agrégé

ZINZENDORF Nanga Yessé Maître de Conférences Agrégé

Docteurs CABLAN Mian N'Dédey Asher Maître-Assistant

KOUASSI-AGBESSI Thérèse Maître-Assistante

TAHOU-APETE Sandrine Assistante

DJATCHI Richmond Anderson Assistant

DOTIA Tiepordan Agathe Assistante

KRIZO Gouhonon Anne-Aymonde Assistante

LATHRO Joseph Serge Assistant

I. BIOCHIMIE, BIOLOGIE MOLECULAIRE, BIOLOGIE DE LA

REPRODUCTION ET PATHOLOGIE MEDICALE

Professeurs MONNET Dagui Professeur Titulaire

Chef de Département

HAUHOUOT-ATTOUNGBRE M.L. Professeur Titulaire

AHIBOH Hugues Maître de Conférences Agrégé

AKE-EDJEME N'Guessan Angèle Maître de Conférences Agrégé

Docteurs KONAN Konan Jean Louis Maître-Assistant

YAYO Sagou Eric Maître-Assistant

KONE Fatoumata Assistante

SIBLI-KOFFI Akissi Joëlle Assistante

YAPO-YAO Carine Mireille Assistante

II. BIOLOGIE GENERALE, HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE

Professeurs SAWADOGO Duni Professeur Titulaire

Chef du Département

INWOLEY Kokou André Professeur Titulaire

DEMBELE Bamory Maître de Conférences Agrégé

KOUASSI Dinard Maître de Conférences Agrégé

Docteurs ABOLI-AFFI Mihessé Roseline Maître-Assistante

ADJAMBRI Adia Eusebé Maître-Assistant

AYE-YAYO Mireille Maître-Assistante

BAMBA-SANGARE Mahawa Maître-Assistante

DONOU-N'DRAMAN Aha Emma Maître-Assistante

KABRAN Tano K. Mathieu Maître-Assistant

KOUAME Dénis Rodrigue Maître-Assistant

BLAO-N'GUESSAN A. Rebecca S. Maître-Assistante

ADIKO Aimé Cézaire Assistant

KABLAN-KASSI Hermance Assistante

YAPO Assi Vincent De Paul Assistant

III. CHIMIE ANALYTIQUE, CHIMIE MINERALE ET GENERALE,

TECHNOLOGIE ALIMENTAIRE

Professeurs MALAN Kla Anglade Professeur Titulaire

Chef de Département

AKE Michèle Professeur Titulaire

GBASSI Komenan Gildas Professeur Titulaire

AMIN N'Cho Christophe Maître de Conférences Agrégé

BONY Nicaise François Maître de Conférences Agrégé

Docteurs KPAIBE Sawa André Philippe Maître-Assistant

BROU Amani Germain Assistant

TRE Eric Serge Assistant

# IV. CHIMIE ORGANIQUE ET CHIMIE THERAPEUTIQUE

Professeurs OUATTARA Mahama Maître de Conférences Agrégé

Chef de Département

YAPI Ange Désiré Maître de Conférences Agrégé

Docteur COULIBALY Songuigama Assistant

KACOU Alain Assistant

KOUAHO Avi Kadio Tanguy Assistant

N'GUESSAN Déto Ursul Jean-Paul Assistant

SICA-DIAKITE Amelanh Assistante

# V. <u>PARASITOLOGIE, MYCOLOGIE, BIOLOGIE ANIMALE ET ZOOLOGIE</u>

Professeurs MENAN Eby Ignace H. Professeur Titulaire

Chef de Département

YAVO William Professeur Titulaire

DJOHAN Vincent Maître de Conférences Agrégé

Docteurs ANGORA Kpongbo Etienne Maître-Assistant

BARRO-KIKI Pulchérie Maître-Assistante

KASSI Kondo Fulgence Maître-Assistant

KONATE Abibatou Maître-Assistant

VANGA-BOSSON Henriette Maître-Assistante

MIEZAN Jean Sébastien Assistant

TANOH-BEDIA Valérie Assistante

# VI. PHARMACIE GALENIQUE, BIOPHARMACIE, COSMETOLOGIE, GESTION ET LEGISLATION PHARMACEUTIQUE

Professeurs KOFFI Armand Angelly Maître de Conférences Agrégé

Chef de Département

AMARI Antoine Serge G. Maître de Conférences Agrégé

DALLY Laba Ismaël Maître de Conférences Agrégé

Docteurs AKA ANY-GRAH Armelle A.S. Maître-Assistante

N'GUESSAN Alain Maître-Assistant

ALLOUKOU-BOKA P. Mireille Assistante

LIA Gnahoré José Arthur Attaché de recherche

N'GUESSAN Kakwokpo Clémence Assistante

N'GUESSAN-AMONKOU A. Cynthia Assistante

KOUASSI-TUO Awa Assistante

VII. PHARMACOGNOSIE, BOTANIQUE, BIOLOGIE VEGETALE,

**CRYPTOGAMIE** 

Professeur KONE-BAMBA Diénéba Professeur Titulaire

Chef de Département

Docteurs ADJOUGOUA Attoli Léopold Maître-Assistant

FOFIE N'Guessan Bra Yvette Maître-Assistante

ADIKO N'dri Marcelline Chargée de recherche

AKOUBET-OUAYOGODE Aminata Assistante

ODOH Alida Edwige Assistante

VIII. PHARMACOLOGIE, PHARMACIE CLINIQUE ET THERAPEUTIQUE ET PHYSIOLOGIE HUMAINE

Professeurs ABROGOUA Danho Pascal Professeur Titulaire

Chef de Département

KOUAKOU-SIRANSY N'doua G. Professeur Titulaire

IRIE-N'GUESSAN Amenan G. Maître de Conférences Agrégé

Docteurs EFFO Kouakou Etienne Maître-Assistant

AMICHIA Attoumou M Assistant

BROU N'Guessan Aimé Assistant

DJADJI Ayoman Thierry Lenoir Assistant

KAMENAN Boua Alexis Assistant

KOUAKOU Sylvain Landry Assistant

# IX. PHYSIQUE, BIOPHYSIQUE, MATHEMATIQUES, STATISTIQUES ET INFORMATIQUE

Professeur GBASSI Komenan Gildas Professeur titulaire

Chef de Département

Docteur KONAN Jean-Fréjus Assistant

# X. <u>SANTE PUBLIQUE, HYDROLOGIE ET TOXICOLOGIE</u>

Professeurs KOUADIO Kouakou Luc Professeur Titulaire

Chef de département

DANO Djédjé Sébastien Professeur Titulaire

OGA Agbaya Stéphane Maître de Conférences Agrégé

KOUAKOU-SACKOU Julie Maître de Conférences Agrégé

SANGARE-TIGORI Béatrice Maître de Conférences Agrégé

Docteurs CLAON Jean Stéphane Maître-Assistant

MANDA Pierre Maître-Assistant

DIAKITE Aissata Maître-Assistante

HOUNSA-ALLA Annita Emeline Maître-Assistante

KONAN-ATTIA Akissi Régine Maître-Assistante

OUATTARA N'gnôh Djénéba Chargée de Recherche

BEDIAKON-GOKPEYA Mariette Assistante

KOFFI Kouamé Assistant

KOUAME Jérôme Assistant

N'GBE Jean Verdier Assistant

# **DEDICACES**

JE DEDIE CETTE THESE à:

# A DIEU: LE TOUT PUISSANT

Toi par qui tout est possible, je tiens à Te rendre grâce pour cette œuvre que tu permets.

Merci pour tout ce que tu accomplis dans ma vie, Toi qui m'a guidé vers cette carrière médicale et universitaire.

Continue de veiller sur moi et de m'inspirer dans tout ce que je fais tous les jours de ma vie. AMINE

# A NOTRE PROPHETE: MOUHAMAD (saw)

Tous les mots du monde ne suffiraient pas à qualifier ce grand Homme au cœur d'or qui n'a cessé d'être tout le long de notre vie un modèle à suivre.

Merci infiniment, Merci pour Tout.

### A MON PERE

Tu as su m'inculquer l'amour du travail bien fait. Tu m'as transmis ton courage et ton intelligence.

Tu m'as toujours soutenu moralement, spirituellement et psychologiquement durant mon long cursus universitaire même dans les moments les plus difficiles pour toi.

Que dieu t'accorde encore longue vie.

# A MA MERE

Maman chérie, ce travail est ma façon à moi de t'honorer, d'essuyer tes larmes.

Femme courageuse, battante, s'oubliant pour que ses enfants puissent réussir. C'est ton jour de rire, d'oublier toute ta souffrance car le SEIGNEUR fait de moi la pharmacienne dont tu as rêvée.

Je prie le SEIGNEUR que tu aies une vieillesse heureuse et prospère auprès de tes enfants. AMINE

### A MON ONCLE

Je ne pourrais jamais avoir les mots pour qualifier ton acte. Ta générosité et ta persévérance n'ont d'égale que ta sincérité et ton honneur. Je te dis aujourd'hui et pour toujours Merci infiniment pour ton soutien sans faille tout le long de ces années.

# A MES FRERES ET SOEURS

A tes résolutions répondra le succès sur ton chemin brillera la lumière.

Enfants merci pour tout le soutien.

Que le TOUT PUISSANT nous aide à arriver à bon port, qu'il veille sur nous et qu'il nous garde à jamais unis!

Je vous aíme

# A FEU MES FRERES QUI M'ONT DEVANCER DANS LA TOMBE

Que la terre vous soit légère.

Que vos dernières demeures soit le Paradis. AMINE

### A MES AMIES

QUE DIEU fasse que notre rêve puisse se réaliser.

# A NOS MAITRES ET **JUGES**

# A NOTRE MAÎTRE ET PRESIDENT DE JURY

### Madame le Professeur AKE MICHELE

- Docteur en pharmacie;
- ➤ DESS en Nutrition, Diététique et Contrôle des Aliments Université Paris XI;
- ➤ DEA option Sciences des aliments de l'université de Montpellier I, option sciences des aliments ;
- ➤ Doctorat de l'Université de Montpellier I, option Sciences des Aliments ;
- ➤ Professeur Titulaire en chimie analytique à l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques d'Abidjan ;
- ➤ Pharmacien chef de la pharmacie et du laboratoire de nutrition de 1'INSP d'Abidjan;
- ➤ Membre de la Société Ouest Africaine de Chimie ;
- ➤ Membre de l'Association of Official Analytical Chemists (AOAC);
- ➤ Membre de la Société des Experts Chimistes de France.

### Cher Maître,

Vous nous avez fait un grand honneur en acceptant de présider ce jury malgré vos multiples occupations, cela témoigne encore de l'intérêt que vous accordez à notre formation. Nous restons convaincus que vous êtes un modèle d'intellectuel et de cadre.

Veuillez trouver ici, cher maître, l'expression de notre profond respect et de notre profonde considération.

# A NOTRE MAÎTRE ET DIRECTEUR DE THESE

# Monsieur le Professeur INWOLEY KOKOU ANDRE

- ✓ Professeur Agrégé d'Immunologie au Département de Biologie Générale, Hématologie et Immunologie de l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques;
- ✓ Responsable de l'Unité d'Immunologie au Centre de Diagnostic et de Recherche sur le VIH SIDA et les infections opportunistes (CeDReS) au CHU de Treichville ;
- ✓ Docteur de l'Université Paris VII, option Immunologie ;
- ✓ Pharmacien, Biologiste des Hôpitaux ;
- ✓ Ancien Interne des Hôpitaux d'Abidjan.

# Cher Maître,

Vous avez accepté malgré vos multiples charges d'assurer l'encadrement de cette thèse. Tout au long de ce travail nous avons pu apprécier non seulement votre amour pour le travail, mais aussi et surtout votre disponibilité, votre simplicité et votre bienveillance. Travailler sous votre direction fut très enrichissant.

Puisse ce travail vous rende hommage.

# A NOTRE MAÎTRE ET JUGE

# Madame le professeur SANGARE TIGORI BEATRICE

- ➤ Professeur en Toxicologie (UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de l'Université Félix Houphouët-Boigny)
- ➤ Docteur en pharmacie
- ➤ Titulaire d'un Doctorat (PhD) en Toxicologie
- Experte en Toxicologie et Produits Pharmaceutiques près les Tribunaux de Côte d'Ivoire
- ➤ Pharmacien analyste au Laboratoire National de Santé Publique (LNSP)
- ➤ Titulaire du Diplôme d'Etudes Approfondies (DEA) de Valorisation de la Pharmacopée Africaine (UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de l'Université Félix Houphouët-Boigny)
- ➤ Titulaire du DESS de Toxicologie (UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de l'Université Félix Houphouët-Boigny)
- ➤ Membre de la Société Savante Pharmaceutique de Côte d'Ivoire (SOPHACI).
- ➤ Membre de la Société Ivoirienne de Toxicologie (SITOX)
- Membre de la Société Française de Toxicologie (SFI)
- ➤ Membre du Bureau National d'Ordre des Pharmaciens de Côte d'Ivoire (Conseil central 3)

# Cher Maître,

Votre simplicité et votre amour pour le travail bien fait ont suscité en nous une très grande admiration.

Recevez cher maître le témoignage de notre sincère reconnaissance et de notre profond respect.

Que Dieu vous bénisse.

# A NOTRE MAÎTRE ET JUGE

# Monsieur le professeur DJOHAN Vincent

- ➤ Professeur agrégé à l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, au département de Parasitologie-Mycologie-Zoologie-Biologie animale
- Docteur en Pharmacie diplômé de l'Université Félix Houphouët Boigny d'Abidjan
- ➤ Biologiste des hôpitaux (CES de Parasitologie-Mycologie, CES d'Immunologie, CES d'Hématologie biologie, DEA d'entomologie médicale et vétérinaire)
- > Entomologiste médical
- ➤ Ancien Interne des hôpitaux d'Abidjan (Lauréat du concours de 2001)
- > Membre de la Société Ouest africaine de Parasitologie
- ➤ Membre de la Société Ivoirienne de Parasitologie et de Mycologie

Cher Maître,

Votre disponibilité et votre simplicité forcent respect et admiration.

C'est donc un grand honneur que vous nous faites en acceptant de siéger dans ce jury.

Soyez assurée de notre profond respect et notre reconnaissance.

# **SOMMAIRE**

ABREVIATIONS	XXIV
LISTE DES FIGURES	XXVI
LISTE DES TABLEAUX	XXVII
INTRODUCTION	1
PREMIERE PARTIE: REVUE DE LA LITTERATURE	4
I- EPIDEMIOLOGIE	5
II- CARACTERISTIQUES VIROLOGIQUES	8
III- PHYSIOPATHOLOGIE	10
IV- DIAGNOSTIC CLINIQUE	11
V-DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE	14
VII-PREVENTION	24
DEUXIEME PARTIE: ETUDE EXPERIMENTALE	26
I. MATERIEL	27
II. METHODES	29
III. RESULTATS	38
IV.DISCUSSION	44
REFERENCES	45

# **ABREVIATIONS**

ADN : Acide Désoxyribonucléique

ARN : Acide Ribonucléique

Ac : Anticorps

Ag : Antigène

ALAT : Alanine Aminotransférase

ASAT : AspartateAminotransférase

Ac anti-HB: anticorps dirigé contre l'antigène de core du virus de l'hépatite B

Ac anti-HBe: anticorps dirigé contre l'antigène e du virus de l'hépatite B

Ac anti-HBs: anticorps dirigé contre l'antigène de surface du virus de l'hépatite B

AgHBc : antigène de core du virus de l'hépatite B

AgHBe : antigène e du virus de l'hépatite B

AgHBs : antigène de surface du virus de l'hépatite B

CQ : Contrôle Qualité

CPF : Cancer Primitif du Foie

CeDReS : Centre de Diagnostic et de Recherche sur le SIDA et les autres

maladies infectieuses.

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

CNTS : Centre National de Transfusion Sanguine

DBS : Dried Blood Spots

DO : Densité Optique

ELISA : Enzyme Linked Immunosorbent Assay

EEQ : Evaluation Externe de la Qualité (EEQ)

EDTA : Ethylène diamine tétra-acétique

FNUAP : Fonds des Nations Unies pour la Population

HAS : Haute Autorité de Santé

IgG : Immunoglobuline de type G

IgM: Immunoglobuline de type M

IFN: Interféron

IST : Infection Sexuellement Transmissible

K : kappa

LDH: lactico-déshydrogénase

OMS: Organisation Mondiale de la Santé

OCT: Ornithine carbamyl Transférase

PC: Polymerase Chain Reaction

PEV : Programme Elargi de Vaccination

Se : Sensibilité

Sp: Spécificité

TDR: Test de Diagnostic Rapide

TGP: Transaminase Glutamique-Pyruvique

TGO: Transaminase Glutamique-oxaloacétique

UNICEF: United Nations International Emergency Children's Fund

μl : microlitre

VS: valeur seuil

VHB /HBV : Virus de l'Hépatite B

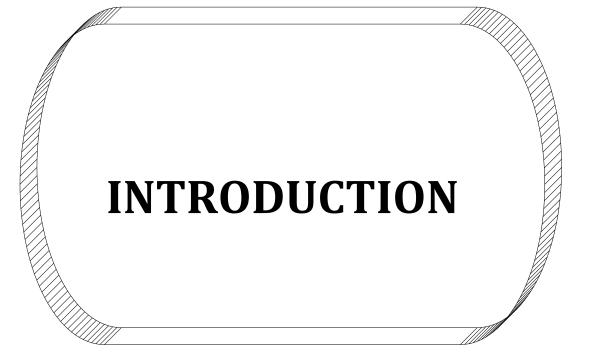
VIH : Virus de l'immunodéficience humaine

# LISTE DES FIGURES

Figure 1: Prévalence du portage de l'AgHBs dans le monde	6
Figure 2: Différentes formes du VHB	9
Figure 3: cinétique des marqueurs de l'hépatite B : cas de l'hépatite aiguë résolutive	18
Figure 4: Image du papier buvard ou dried blood spot (DBS)	.33
Figure 5: Comparaison du prélèvement sanguin sur (DBS) vs prélèvement de sang Classique.	

# LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: Interprétation des marqueurs sérologiques de l'hépatite B	17
Tableau II: Calcul des performances du test sur DBS	36
Tableaux III: Performances du test Dia.Pro avec Ratio = 1	39
Tableaux IV: Performances du test Dia.Pro avec Ratio = 3	40
Tableaux V: Performances du test Dia.Pro avec Ratio = 5	41
Tableaux VI: Performances du test Dia.Pro avec Ratio = 10	42
Tableau VII: Bilan des performances techniques sur DBS	43



L'hépatite virale B est une maladie inflammatoire aigüe ou chronique du foie due au virus de l'hépatite B (VHB). Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), 2 milliards de personnes sont infectées par le VHB dont plus de 240 millions de porteurs chroniques [1, 26, 41]. Plus de 780 mille individus meurent chaque année des complications de cette infection chronique due au virus de l'hépatite B [24].

L'Afrique subsaharienne et l'Asie orientale restent les régions les plus touchées. La prévalence globale de l'hépatite B est estimée à 8% en Afrique de l'Ouest et de 5% à 7% dans les régions d'Afrique centrale, orientale et australe [23].

En Côte d'Ivoire la prévalence de l'hépatite B était de 7,53% en 2012[19].

Le dépistage et la vaccination des personnes exposées demeurent les moyens les plus efficaces de lutte contre cette épidémie. Cependant les pays à ressources limitées en particulier ceux de l'Afrique, sont confrontés à de nombreux facteurs de limitation entre autres l'inaccessibilité géographique et financière des populations aux analyses conventionnelles de laboratoire ainsi que les conditions climatiques défavorables pour la conservation et le transport des échantillons biologiques. L'utilisation de la technique de prélèvement sur papier filtres appelé Dried Blood Spots (DBS) à partir de sang total constitue alors une alternative intéressante aux prélèvements sanguins classiques particulièrement lors des enquêtes épidémiologiques et l'utilisation des tests rapides pour le diagnostic.

Par ailleurs, le diagnostic biologique de l'hépatite B se fait par des tests sérologiques. A côté des méthodes Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) adaptées aux grandes séries, l'utilisation des tests rapides pour la détection de l'antigène de surface antigène HBs du virus de l'hépatite B a donné de bons résultats [23].

Il est important de faire correctement le diagnostic étant donné les complications possibles de la maladie. Aussi serait-il primordial de réaliser un contrôle qualité (CQ) des Test de Diagnostic Rapide (TDR) afin d'assurer l'exactitude et la fiabilité des résultats.

Les DBS en raison de leurs avantages pratiques, notamment la facilité de transport et de conservation et leurs avantages économiques se présentent comme des outils nécessaires pour assurer ce contrôle qualité.

C'est dans ce contexte que nous avons réalisé notre étude dont l'objectif général était: d'évaluer la détection de l'antigène HBs sur DBS par le test immunoenzymatique Dia.pro® (Diagnostic Bioprobes).

# Les objectifs spécifiques étaient de:

- Evaluer la sensibilité du dépistage de l'antigène HBs sur DBS
- Evaluer la spécificité du dépistage de l'antigène HBs sur DBS
- Déterminer la valeur seuil pour le diagnostic de l'hépatite B sur DBS.

# PREMIERE PARTIE: REVUE DE LA LITTERATURE

### I- EPIDEMIOLOGIE

# I-1. Répartition géographique

L'hépatite virale B est une pathologie ubiquitaire d'expression endémique. La prévalence mondiale de l'hépatite B (VHB) est estimée à deux milliards de personnes et l'incidence est de 600 millions. Le nombre de porteurs chroniques du virus est d'environ 240 millions [27].

L'hépatite B est la 9<sup>ème</sup>cause de mortalité dans le monde avec chaque année, un million de décès par hépatite fulminante, cirrhose ou cancer primitif du foie [2,21]. Toutefois, elle a une distribution inégale classée en trois zones géographiques évaluées selon le taux de portage chronique de l'antigène HBs dans la population adulte:

- zone de faible endémie (prévalence < 2 %): Australie; Amérique du Nord; Europe de l'Ouest,
- > zone de moyenne endémie (prévalence comprise entre 2 % et 7 %): Europe de l'Est; Union Soviétique; pays méditerranéens et Proche-Orient,
  - > zone de haute endémie (prévalence comprise entre 8 % et 20 %): Afrique sub-saharienne; Asie du Sud-est; Chine méridionale.

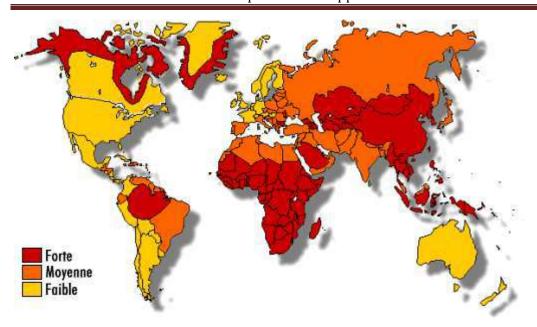


Figure 1: Prévalence du portage de l'Ag HBs dans le monde [26].

### I-2. Modes de transmission

Le virus de l'hépatite B se transmet directement ou indirectement par les liquides biologiques provenant d'individus infectés. Ces liquides sont: le sang, les sécrétions sexuelles (sperme, sécrétions vaginales) [32], ainsi que la salive [34].

Les larmes, les urines, le lait maternel, les selles bien que contenant de faibles quantités de virus ne transmettent pas le virus. La contagiosité de ces liquides n'est pas démontrée car la charge virale y est 100 à 1000 fois plus faible que dans le sang [3].

# I-2.1. Voie sanguine

Le virus peut se transmettre lors de la réutilisation d'aiguilles ou de seringues en milieu de soins ou parmi des personnes consommatrices de drogues par injection. En outre, l'infection peut se produire pendant des actes médicaux, chirurgicaux ou dentaires, des tatouages ou lors de l'utilisation de rasoirs ou d'objets similaires contaminés par du sang infecté [26].

### I-2.2. Voie sexuelle

Le VHB est mis en évidence dans le sperme et les sécrétions vaginales des sujets atteints d'une hépatite aiguë B et les porteurs chroniques symptomatiques ou asymptomatiques. C'est donc une infection sexuellement transmissible [32]. Le nombre de partenaires, le nombre d'années d'activité sexuelle et l'existence d'antécédents d'autres infections sexuellement transmissibles sont des facteurs de risque [32].

La prévalence chez les partenaires sexuels de sujets infectés est estimée à 16%-40%. La transmission hétérosexuelle a été démontrée comme étant à l'origine de plus de 40% des cas de cette infection chez les adultes aux USA [32].

### I-2.3. Transmission mère-enfant ou transmission verticale

Les enfants nés de mères antigène HBs positifs sont exposés à un risque particulier de contamination par voie sanguine car le virus de l'hépatite B franchit la barrière placentaire du fait de sa très petite taille. Ce mode prédomine en Asie. En effet, 95% des enfants sont contaminés au moment de la délivrance, par contact direct avec le sang et les sécrétions de la filière génitale maternelle et 5% sont contaminés in utero [30].

Ces nouveau-nés infectés sont particulièrement exposés à un risque de portage chronique.

### I-2.4. Transmission intrafamiliale ou horizontale

Cette voie est fréquente chez les jeunes enfants et les adolescents, mais peut exister à tout âge. Elle est fréquente dans la vie quotidienne d'une famille. La moindre excoriation cutanée ou muqueuse libérant du sang peut assurer la contamination du virus de l'hépatite B soit par contact direct, soit par une brosse à dent ou un rasoir (0,0001 ml de plasma peut assurer la transmission) [8].

# II- CARACTERISTIQUES VIROLOGIQUES

### II-1. Taxonomie

C'est un virus à ADN de 42 nm, appartenant à la famille des hepadnaviridae ou hepadnavirus et au genre Orthohepadnavirus [47].

#### II-2. Structure

#### II-2.1. Formes

L'examen au microscope électronique des sérums infectés montre:

- des particules sphériques très nombreuses de 22 nm
- des tubules de même diamètre mais allongés mesurant jusqu'à 230 nm,
- > des particules sphériques plus rares mais plus grandes (42 nm) qui représentent le virus lui-même. Elles comportent une partie centrale ou "core" de 27 nm correspondant à la nucléocapside et une partie périphérique correspondant à l'enveloppe. Ces particules, dénommées particules de Dane, sont infectieuses [28] (voir Figure 2)

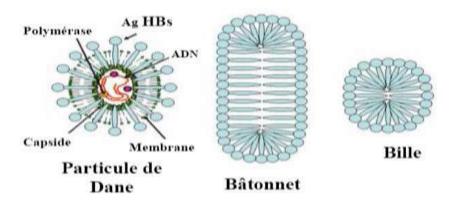


Figure 2: Différentes formes du VHB [9].

#### II-2.2. Génome

Le génome est court et constitué de 3200 nucléotides. C'est un ADN circulaire bicaténaire sur deux tiers de sa longueur. Il possède donc un brin long et un brin court.

Huit génotypes différents, désignés par des lettres de A à H, sont identifiés sur des variations portant sur la séquence nucléotidique. Répartit selon des zones géographiques précises, les génotypes influents sur l'évolution de la maladie et sur l'efficacité du traitement [6].

# II-2.3. Antigènes

L'enveloppe porte l'Ag de surface Ag HBs. La nucléocapside contient l'Ag du core appelé Ag HBc associé à un autre Ag dénommé Ag HBe. Il a été également mis en évidence dans la nucléocapside une activité enzymatique ADN polymérase et une thymidine kinase [4].

#### III- PHYSIOPATHOLOGIE

A l'intérieur de l'organisme hôte, le virus se fixe sur la paroi de la cellule hépatique à travers des récepteurs spécifiques qui sont encore mal connus. Comme tous les virus hépatotropes, le VHB a une affinité particulière pour le foie, mais son matériel génétique se retrouve dans d'autres organes (rein, pancréas, peau) ainsi que dans certains globules blancs du sang et de la moelle osseuse. Cette présence pourrait expliquer la réinfection du greffon hépatique chez les patients transplantés pour une cirrhose hépatique due à l'hépatite B [6]. Le VHB fait pénétrer dans l'hépatocyte son matériel génétique qui entre dans le noyau de la cellule où il est transformé en ADN super enroulé [38] et se met à produire des copies sous la forme d'ADN. Cet ADN est transcrit en ARN messager qui arrive au niveau des ribosomes pour subir la traduction.

Les protéines produites se regroupent en formant des particules à l'intérieur de la cellule.

Les copies du matériel génétique du virus entrent à l'intérieur des particules créées, se complètent en deux chaînes d'ADN pour donner un nouveau virus. Ce dernier peut prendre deux chemins différents : s'envelopper et sortir de la cellule sous la forme d'un nouveau virus ou continuer à se reproduire

à l'intérieur de la cellule. Le virus se multiplie très vite, atteignant son pic le quatrième mois après l'infection, avec environ 100 milliards de copies pour 1 millilitre de sang. Une cellule du foie peut produire entre 200 et 1000 virus par jour et au plus haut de l'infection à l'intérieur de l'organisme peuvent se créer jusqu'à 100000 milliards de copies par jour. Dans cette masse de virus en multiplication permanente, il y a régulièrement des "défauts de production" (des mutations), qui échappent à la défense de l'organisme et entretiennent la chronicité de la maladie. Le nombre de virus en circulation commence à baisser avec l'apparition des signes cliniques [6].

Le virus active le système immunitaire à travers ses Ag. Ce sont des molécules complexes qui sont reconnues par l'organisme et qui entrainent la production d'Ac spécifiques (réponse humorale) et cytotoxique (réponse tumorale) [6]. Lorsque la réaction immune de l'hôte est très forte, correspondante à la destruction massive et rapide (réponse immune T cytotoxique) des hépatocytes infectés par le HBV (hépatite B fulminante).

## IV- DIAGNOSTIC CLINIQUE

L'infection par le virus de Hépatite B peut être, soit aiguë, soit chronique soit encore évoluer vers une hépatite occulte.

# IV-1. Hépatite aigue

L'hépatite B aiguë est peu fréquente ; elle se caractérise par un syndrome pré-ictérique très évocatrice de l'infection (coloration jaune de la peau et des muqueuses par défaillance d'une enzyme hépatique). Elle survient après une période d'incubation de 2 à 3 mois. L'hépatite B aiguë se présente sous différentes formes:

> une forme asymptomatique ou anictérique: deux tiers des cas environ.

- ➤ une forme symptomatique: un tiers des cas environ, d'installation progressive et d'une intensité modérée, elle se caractérise par l'apparition d'un ictère, des urines foncées, des selles normales ou décolorées. La maladie commence par une altération de l'état général, une légère fièvre, des douleurs mal systématisées, le tout évoquant un état grippal ou le paludisme. Des signes digestifs à type de douleurs abdominales nausées et vomissement peuvent survenir de façon inconstante. L'ictère apparaît plus tard permettant d'affirmer le diagnostic. Nous notons parfois un prurit comme dans toutes les formes d'hépatite dont il peut être le premier signe. La maladie dure quelques semaines, puis la plupart des personnes touchées présentent une amélioration progressive.
- ➤ forme fulminante: 1 à 2% des cas environ. Les patients présentent des signes neurologiques d'insuffisance hépatique. Cette forme est létale dans 90% des cas [44].
- La phase de convalescence: c'est l'étape ultime des hépatites virales aigues qui se caractérise par une régression puis disparition de l'ictère en 06 semaines avec normalisation des transaminases. Toute fois l'asthénie peut persister encore plusieurs semaines.

# IV-2. Hépatite chronique

Elle est le plus souvent asymptomatique et de découverte fortuite. Plus rarement, elle peut se manifester par les signes cliniques à savoir une asthénie persistante inexpliquée.

Au plan biologique, elle se caractérise par une cytolyse modérée et une positivité des marqueurs viraux (Ag HBs pendant plus de 6 mois et Ac Anti HBc type IgG) [5]. Le risque d'évolution vers la chronicité dépend de l'âge du patient et de son système immunitaire. Le taux d'évolution vers la chronicité de 5-10%, concerne l'adulte immunocompétent. Il est beaucoup plus élevé chez les

nouveau-nés infectés (90%) ou chez les sujets immunodéprimés (plus de 10%). Après quelques mois, les trois quarts de ces formes chroniques se transforment spontanément en hépatites chroniques persistantes. En revanche, un quart évolue en hépatites chroniques actives s'accompagnant d'une destruction massive des hépatocytes. Progressivement, les hépatocytes détruits sont remplacés par du tissu cicatriciel et l'hépatite évolue ainsi vers la cirrhose. Il n'est pas rare que la maladie ne soit découverte qu'à ce stade, lors d'une complication de la cirrhose (ascite, ictère ou hémorragie digestive).

A un stade tardif, nous trouvons des signes cliniques d'insuffisance hépatocellulaire ou d'hypertension portale. Le foie ne remplit plus son rôle de synthèse et d'épuration, ce qui aboutit à la mort du malade. A long terme, certaines cellules se transforment et initient un cancer primitif du foie (CPF) [16].

# IV-3. Hépatites occultes

L'infection occulte par le virus de l'hépatite B est définie par la présence d'ADN du virus de l'hépatite B dans le sang détecté par la biologie moléculaire chez des patients n'ayant pas d'antigène HBs circulant détectable. Le plus souvent l'Ac anti HBc est présent dans le sérum [40].

Cependant, la signification clinique de l'hépatite B occulte est inconnue. Actuellement, il n'y a pas de preuve qu'il soit nécessaire de détecter ou de traiter systématiquement l'infection à VHB occulte. Cependant, il est important de dépister l'infection à VHB occulte dans certaines situations cliniques spécifiques. Par exemple, en cas de chimiothérapie pour cancer, il existe un risque de réactivation de l'hépatite B et un traitement préventif anti-VHB peut être envisagé [17].

# V-DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE

# V-1. Diagnostic non spécifique

# V-1-1. Transaminases sériques

Ce sont des enzymes ayant pour coenzyme le phosphate de pyridoxal. Elles assurent le transfert du radical  $NH_2$  d'un acide aminé sur un acide  $\alpha$ -cétonique. Les transaminases permettent ainsi au cours de la dégradation oxydative des acides aminés, le transfert du radical aminé vers l'uréogenèse.

Leur élévation, même mineure, traduit une cytolyse plus ou moins importante. Cette élévation est un signe présomptif d'une hépatite virale.

# Il en existe deux types:

- la Transaminase Glutamique-pyruvique (TGP) ou Alanine Amino-Transférase (ALAT) qui est essentiellement cytoplasmique apparaît plus vite, en grande quantité et est plus spécifique du foie.
  - Taux normal: 5-28 UI/ml (37°C) [45].
- la transaminase Glutamique-oxaloacétique (TGO) ou Aspartate Amino-Transférase (ASAT): son taux précède toujours la phase ictérique et suit l'évolution du taux d'ALAT.

Taux normal: 7-35 UI/ml (37°C) [45].

# V-1-2. Autres tests sanguins de cytolyse hépatique

D'autres tests de cytolyse hépatique (OCT: transférase, LDH: lactico-déshydrogénase) et des tests d'insuffisance de synthèse hépatique (estérases, protides totaux, sérum albumine, cholestérol estérifié, fibrinogène et complexe prothrombinique) peuvent compléter l'exploration biochimique des hépatites virales [34].

# V-2. Diagnostic spécifique

# V-2-1. Marqueurs du virus de l'hépatite B

Les marqueurs sont des éléments qui signent la présence ou le passage du virus dans l'organisme. Ce sont:

- l'AgHBs, signe l'infection. Il est à la fois présent dans le sérum ainsi que le cytoplasme de l'hépatocyte.
- l'AgHBc, lié à la nucléocapside, est présent uniquement dans l'hépatocyte.
- l'AgHBe, lié à la nucléocapside comme l'AgHBc dont représente une forme dégradée, n'est décelé que dans le sérum.
- les Ac anti-HBc, anti-HBe et anti-HBs sont retrouvés dans le sérum. Le témoin biologique le plus fidèle du contact du virus avec l'organisme est l'Ac anti-HBc: c'est le marqueur du contage.
- l'ADN viral est libre dans le sérum ou dans l'hépatocyte où il peut être intégré à l'ADN chromosomique [35].

#### V-2-2. Méthodes de détection

# V-2-2-1 La détection / quantification de l'ADN du virus :

Différentes méthodes de biologie moléculaire permettent la détection et la quantification de l'ADN du VHB dans les liquides biologiques afin d'évaluer le niveau de la réplication virale. Deux types de techniques d'amplification peuvent être utilisés pour quantifier l'ADN du VHB:

Les méthodes d'amplification de la cible, de type Polymérase Chain Réaction (PCR) et les méthodes d'amplification du signal, comme la capture d'hybrides ou la technique des ADN branchés.

L'expression des résultats se fait en copie par millilitre (copie/ ml). Les copies ne sont pas une unité internationale. Elle ne permet pas d'équivalence d'un pays

à l'autre d'où l'utilité de l'expression d'un même résultat en logarithme (log) log/ml. Les logs sont une expression mathématique donc un langage international.

Quelle que soit la technique utilisée, l'expression des résultats en unités internationales par millilitre (UI / ml) est indispensable afin d'homogénéiser les résultats entre laboratoires de diagnostic et d'appliquer les résultats des essais thérapeutiques à la pratique clinique [10].

Il n'existe pas de formule de conversion des log/ml en UI/ml; tout dépend du rapport de laboratoire.

# V-2-2-2 La détection des antigènes et anticorps

La détection des antigènes viraux et des anticorps spécifiques dans les fluides biologiques est fondée sur l'utilisation des tests immuno-enzymatiques de type Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA). Ces méthodes immuno enzymatiques sont faciles à utiliser, automatisables et, de ce fait, permettent de traiter un grand nombre d'échantillons [10].

# V-2-2-3. Interprétation des marqueurs

Les différentes formes de l'infection par le VHB peuvent être définies par les marqueurs (**Tableau I**).

Tableau I: Interprétation des marqueurs sérologiques de l'hépatite B [33].

			ANTICORPS			
STADES CLINIQUES	AgHBs	AgHBe	Anti- HBe	Anti- HBcIgM	Anti- HBc totaux	Anti- HBs
INCUBATION	+	+	-	-	-	-
HEPATITE AIGUE	+	+	-	+	+/-	-
HEPATITE CHRONIQUE ACTIVE	+	+	-	-	+	-
HEPATITE CHRONIQUE NON ACTIVE	+	-	+/-	-	+	-
CONVALESCENCE	-	-	+/-	-	+	-
GUERISON	-	-	-/+	-	+	+
VACCINATION	-	-	-	-	-	+

# V-2-2-4. Cinétique des marqueurs

# Cas de l'hépatite aiguë

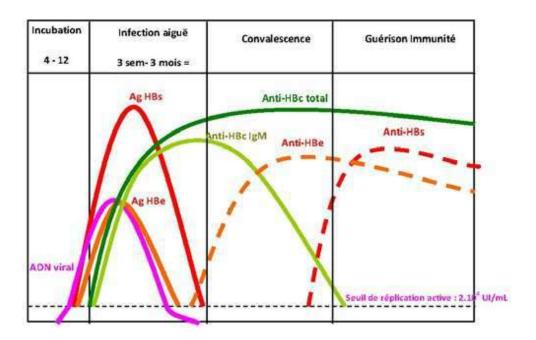


Figure 3 : cinétique des marqueurs de l'hépatite B [18].

# Cas du passage à la chronicité

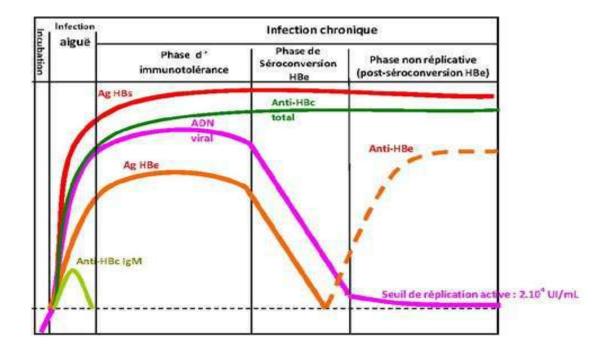


Figure 4 : Cinétique des marqueurs de l'hépatite B : cas du passage à la chronicité [18].

# V-3. Diagnostic anatomopathologique.

La biopsie hépatique est l'examen clé dans le diagnostic et la prise en charge d'une hépatite chronique. [15,46].

#### Elle:

- -confirme le diagnostic clinique
- détermine le grade de sévérité de l'activité inflammatoire
- détermine le stade de fibrose
- évalue les lésions secondaires à d'autres maladies associées
- apprécie la réponse histologique au traitement.

Différents scores histologiques sont utilisés: [15,46].

- Le score de Knodell qui apprécie 4 grandes variables appelées «index histologique d'activité» qui varie de 0 à 22.
- Le score de Metavir apprécie 2 éléments, l'activité et la fibrose :

ACTIVITE (Grade)	FIBROSE (Stade)
A0 = pas d'activité	<b>F0</b> = pas de fibrose
A1 = activité minime	<b>F1</b> = fibrose portale sans Atteinte septale
A2 = activité modérée	<b>F2</b> = fibrose portale + Quelques atteintes septales
A3 = activité sévère	<b>F3</b> = fibrose septale  Sans cirrhose
	<b>F4</b> = cirrhose

# V-4. Les marqueurs biologiques de fibrose: Fibrotest

L'état histologique du foie est considéré comme une donnée indispensable pour la décision du traitement et du suivi des sujets contaminés par le VHB [36].

Or, la biopsie du foie n'est pas un geste anodin. Parfois vécue par les patients comme un examen agressif, elle peut être alors un obstacle à la prise en charge efficace de l'hépatite B [36].

Des études menées sur les complications de la biopsie montrent qu'une douleur est signalée chez un tiers des patients, qu'une complication sévère est notée dans 3 cas sur 1000 et qu'un décès survient dans 3 cas sur 10000[36].

De ce fait, 59% des patients en France refusent de subir une biopsie et 22% des médecins partagent la même crainte. Pour remédier à ces multiples difficultés, Poynard et ses collaborateurs en France, ont mis au point un test biochimique qui, bien que faisant encore partie du domaine de la recherche clinique, a montré son efficacité : il s'agit du fibrotest encore appelé « index de fibrose ».

Ce test combine le dosage dans le sang de cinq marqueurs indirects de fibrose avec un ajustement selon l'âge et le sexe du sujet.

Les cinq marqueurs qui ont été sélectionnés et validés sont les suivants.

# ❖ L'alpha 2 macroglobuline

C'est une protéine de l'inflammation synthétisée par le foie dont la concentration sérique augmente avec la fibrose.

# **❖** L'haptoglobine

C'est une protéine synthétisée par le foie, qui diminue en cas de fibrose. Cette diminution est indépendante de l'hémolyse et de l'insuffisance hépatique.

# **❖** L'apolipoprotéine A1

Synthétisée par le foie, cette protéine sert à transporter le cholestérol. En cas de fibrose la libération en est ralentie et l'Apo A1 sérique diminue.

# **❖** <u>La bilirubine totale</u>

C'est un pigment protéique résultant de la dégradation des globules rouges, et normalement épuré du sang par le foie qui l'évacue ensuite dans la bile.

En cas de fibrose hépatique, la bilirubine augmente.

# ❖ La gamma glutamyltranspectidase.

Enzyme synthétisée par les hépatocytes, elle augmente en cas de fibrose.

#### ➤ INTERPRETATION :

L'index du test de fibrose peut varier de 0,00 à 1,00 :

- quand il est très bas (de 0,00 à 0,10), la probabilité d'avoir une fibrose significative est très faible.
- Quand il est compris entre 0,10 et 0,60 les valeurs prédictives sont inférieures à 90% et il est déconseillé de pratiquer une biopsie hépatique.

Cette combinaison de marqueurs permet donc de baisser de moitié le nombre de biopsies hépatiques chez les sujets infectés par le VHB.

#### VI-TRAITEMENT

Les formes aiguës ne nécessitent aucune prescription médicamenteuse. Le repos au lit est préférable en cas d'asthénie. L'alcool, l'automédication et les médicaments traditionnels doivent être proscrits.

#### VI-1.Conditions de traitement

Le traitement est indiqué dans les cas suivants:

- Présence de fibrose/cirrhose
- taux d'ALAT> 2 N
- Charge virale>20000 copies/ml.
- Antécédents familiaux de cancer primitif du foie

# VI-2. Traitements disponibles

Le traitement curatif repose essentiellement sur les analogues nucléos(t)idiques et l'interféron  $\alpha$ .

# VI-2-1. Les analogues nucléos(t)idiques

Les analogues nucléos(t)idiques (NAs) bloquent la réplication virale en inhibant de façon compétitive l'incorporation des nucléotides lors de l'élongation virale par la polymérase. Ces molécules antivirales vont interagir avec le site catalytique YMDD de la polymérase virale. Ce sont aussi des inhibiteurs de la transcriptase inverse. Deux analogues, le Ténofovir et l'Entecavir sont actuellement utilisés [31].

#### VI-2-2. L'Interféron-α

L'Interféron- $\alpha$  (IFN $\alpha$ ), molécule physiologique de défense contre les virus, trouve une place de choix dans le traitement des hépatites chroniques B puisqu'il associe des propriétés antivirales, immunomodulatrices et antiprolifératives [25].

# VI-3. Schéma thérapeutique

L'OMS préconise la prescription des analogues nucléos(t)idiques en première et deuxième intention car ces médicaments conduisent rarement à l'apparition d'une pharmacorésistance. L'OMS recommande aussi un traitement à vie des personnes cirrhotiques [31].

#### VI-4. Surveillance du traitement

L'efficacité des traitements doit être appréciée par l'obtention d'une charge virale indétectable, ainsi que par la séroconversion Ac anti-HBe. La recherche de l'antigène HBs doit être faite régulièrement chaque 6 mois pour apprécier une perte de ce marqueur, puis l'acquisition des Ac anti-HBs [37]. Mais les traitements curatifs des complications de l'hépatite chronique (cirrhose et cancer primitif du foie) restent décevants et l'évolution nécessite parfois une

greffe hépatique. Devant cette situation, la priorité absolue doit être à la prévention.

#### **VII-PREVENTION**

#### VII- 1- Prévention de la transmission

#### VII- 1-1- Information

La sensibilisation à tous les types d'hépatite virale aide à réduire leur transmission à l'échelle des communautés. Depuis 2011, l'Alliance Mondiale contre l'hépatite, l'OMS et ses partenaires, organisent le 28 juillet de chaque année la Journée mondiale de l'hépatite, afin de sensibiliser l'opinion et mieux faire comprendre la maladie auprès du grand public.

#### VII 1-2-Prévention Transmission sexuelle

L'usage du préservatif prévient la transmission sexuelle du HBV. Comme pour les autres infections sexuellement transmissibles (IST), son utilisation est recommandée si le statut du partenaire n'est pas connu. La large diffusion des campagnes de lutte contre le VIH, concernant la transmission sexuelle du virus, sont tout aussi bénéfiques pour les autres IST dont fait partie le HBV. Les messages sont aussi axés sur l'abstinence, la fidélité, et l'utilisation des préservatifs [13].

#### VII 1-3- Sécurité des injections

Les bonnes pratiques de lutte contre les infections pour les injections intradermiques, sous cutanées et intramusculaires recommandent l'utilisation de matériel neuf à usage unique, pour chaque injection et pour la reconstitution de chaque unité médicamenteuse. La déclaration conjointe OMS-UNICEF-FNUAP, a encouragé l'utilisation exclusive de seringues autobloquantes dans les services de vaccination [14]. De plus, La mise en œuvre de stratégies de sécurité

transfusionnelle, y compris le dépistage de tous les dons de sang et des composants sanguins utilisés pour les transfusions, peut permettre de prévenir la transmission du virus de l'hépatite B.

#### VII 2–Vaccination

Le vaccin contre l'hépatite B est la clé de voute de la prévention de cette maladie. L'objectif principal des stratégies de vaccination anti-hépatite B est de prévenir l'infection à virus de l'hépatite B. L'OMS recommande d'administrer ce vaccin à tous les nourrissons dès que possible après leur naissance, et de préférence dans les 24 heures qui suivent.

En côte d'Ivoire, la vaccination contre le VHB n'est rentrée dans la PEV qu'en 2014.

# VII.2-1 Description du vaccin

Les vaccins anti-hépatite B sont des vaccins recombinants utilisant un AgHBs produit par des levures ou des cellules de mammifères dans lesquelles un gène codant pour AgHBs (gènes AgHBs / pré-AgHBs) a été introduit au moyen de plasmides [31].

#### VII.2.2-Schéma de la vaccination anti-VHB

Le schéma actuellement recommandé est de trois injections par voie intramusculaire (dans la région deltoïdienne pour les adultes et dans la cuisse pour les nourrissons), à un mois d'intervalle.

L'OMS ne préconise pas de vaccination de rappel pour les personnes ayant reçu le calendrier complet de vaccination en 3 doses [47].

# DEUXIEME PARTIE: ETUDE EXPERIMENTALE

#### I. MATERIEL

# I-1. Type et période d'étude

Il s'agit d'une étude transversale d'évaluation de test qui a couvert la période allant d'Août 2016 à Novembre 2017.

#### I-2. Cadre de l'étude

L'étude s'est déroulée au laboratoire d'immunologie du Centre de Diagnostic et de Recherche sur le SIDA et les autres maladies infectieuses (CeDReS) sis au sein du Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Treichville d'Abidjan (Côte d'Ivoire).

#### I-3. Taille de l'échantillon

La taille de l'échantillon de l'étude a été déterminée par la formule de SCHWARTZ [39]:

$$n = t^2 x p x (1-p)/m^2$$

n = taille d'échantillon minimale pour l'obtention de résultats significatifs pour un événement et un niveau de risque fixé.

t = niveau de confiance (la valeur type du niveau de confiance de 95% sera 1,96).

P = 7,53% (prévalence moyenne de l'hépatite B chez les donneurs de sang en 2012) [19].

m = Marge d'erreur (généralement fixé à 5%).

Ainsi, pour une prévalence de 7,53%, un niveau de confiance de 95% et une marge d'erreur de 5%, la taille d'échantillon devra être de :

$$n = 1.96^2 \times 0.0753 \times (1-0.0753) / 0.05^2 = 107.$$

La taille minimale requise pour cette étude était de 107 échantillons.

Notre population d'étude était constituée de 149 échantillons.

# I-4. Population d'étude

L'étude a porté sur des donneurs de sang adultes de tout sexe du CNTS dont les échantillons ont été collectés et stockés au CeDRes pour la confection des DBS. Le panel d'évaluation comprenait 149 échantillons pour lesquels les résultats plasmatiques à l'antigène HBs étaient connus.

# I-5. Spécimen biologique

La réalisation de cette étude a nécessité du sang total (sang veineux) prélevé dans des tubes de 5 ml contenant de l'éthylène diamine tétra-acétique (EDTA). Ce sang total a servi à la confection des DBS puis a été centrifugé à 3000 tours / min pendant 5 minutes. Le plasma obtenu a été conservé à -20° C dans des cryotubes.

# I-6. Appareillage, réactifs et petit matériel de laboratoire

Pour la réalisation de notre étude, nous avons utilisé le matériel suivant:

Une centrifugeuse de laboratoire nous a permis de séparer le sang total en culot globulaire et en plasma.

Nous avons également utilisé :

- des gants propres à usage unique
- une solution d'hypochlorite de sodium à 12° diluée à 10%
- des embouts pour micropipettes
- des micropipettes de 50µl, 100µl, 150µl, 200µl, 500µl
- les micropipettes multi-canon
- des puncheurs pour découper les spots
- le papier pour le nettoyage du punch
- les portoirs (en polystyrène; en fer)
- un vortex

- les tubes Falcone
- l'éprouvette graduée1litre
- les bacs
- la poubelle
- une Chaîne ELISA Semi-automatique de marque Bio.rad®
- des bidons à solution de lavage et d'eau distillée
- une glacière
- un réfrigérateur
- un combiné réfrigérateur-congélateur
- des kits du test à évaluer DiaproHBsAg one (Dia.pro® Diagnostic Bioprobes), Italy. Réf. SAG 01ULTRA.CE.48

### I-7. Réactifs

Les réactifs étaient constitués de:

- sérum de veau fœtal, SIGMA Réf. N 4762-500 ML
- PBS 10 X
- préparation de tampon d'élution
- sérum de contrôle positif
- sérum de contrôle négatif
- contrôle positif

#### II. METHODES

# II-1. Confection et conservation des Dried Blood Spots

Pour confectionner nos DBS, 50 µl de sang total homogénéisé ont été déposés sur le papier buvard afin de remplir le cercle de 6 mm de diamètre sur le DBS. Une fois que tous les cercles imprimés sur le papier buvard requis étaient

remplis, il a été séché pendant toute une nuit à température ambiante sur une surface non absorbante [25].

Une fois séchées, les cartes DBS ont été placées dans des sacs plastiques étanches avec des sachets de dessicants et conservé dans un sac scellé jusqu'au jour de l'analyse.

#### II-2. Elution des cartes DBS

- Préparation du tampon d'élution à base de sérum de veau fœtal
   Mettre dans une éprouvette graduée de 1 litre
  - 50 ml de PBS 10 X
  - 5 gouttes de sérum de veau fœtal, agité. Ajouter 450 ml d'eau distillée, agité.

La solution homogène de 500 ml obtenue correspond au tampon d'élution. Cette solution est conservable au réfrigérateur pour une durée maximum de 1 mois.

#### Elution des cartes DBS

Pour réaliser l'élution des DBS, nous avons découpé un disque ou «punch» de 6 mm de diamètre par échantillon avec un emporte-pièce spécifique appelé puncheur. Ces « punchs» ont été disposés dans les cryotubes contenant 700 µl du tampon d'élution composé de 0,05% de sérum de veau fœtal dans du PBS 10 X.

Après une agitation légère pendant 2 minutes, l'élution des DBS s'est faite pendant toute une nuit à 4°C. L'éluât de DBS a été traité comme un échantillon de sang total et a été analysé [11].

## II-3. Analyse biologique

Nous avons réalisé les tests biologiques en soumettant l'éluat de DBS de tous les échantillons au test Dia.pro® AgHBs version ULTRA.

❖ Présentation du coffret Dia.pro® AgHBs version ULTRA.

Le coffret Dia.pro® est un test de diagnostic in vitro qui permet de détecter l'antigène HBs présent dans l'échantillon.

La version ULTRA convient tout particulièrement aux dépistages automatisés et est capable de détecter les mutants «S». Le contenu standard de la trousse prévoit suffisamment de réactifs pour réaliser 192 tests et comporte les éléments suivants :

- une notice d'utilisation en français
- deux microplaques contenant chacun 12 barrettes de 8 micropuits sécables
- un sérum de contrôle négatif: un flacon de 4,0 ml près à l'emploi
- un sérum de contrôle positif: un flacon de 4,0 ml près à l'emploi
- deux flacons d'étalon ou calibrateur: étalon lyophilisé
- le tampon de lavage concentré WASHBUF 20 X: deux bouteille de 60 ml
- diluant pour conjuguer enzymatique: deux flacons de 16 ml
- conjugué enzymatique: deux flacons de 1ml
- chromogène (substrat): deux bouteilles de 25 ml
- acide sulfurique: une bouteille de 25 ml
- quatre feuilles pour sceller les plaques.

# Principe du test

Le kit Dia.pro® utilise le principe d'immunodosage type Sandwich pour la détection de l'antigène HBs. Il consiste à fixer les antigènes HBs, présents dans le sérum ou le plasma du patient, aux anticorps spécifiques contenus dans les micropuits.

L'immun complexe formé si l'antigène HBs est présent dans l'échantillon est révélé grâce au conjugué qui correspond à un anticorps marqué. L'utilisation du mélange chromogène / substrat permet d'obtenir un produit final coloré dont la densité optique (DO) est mesurée par un lecteur pour test ELISA.

# **❖** Mode opératoire

- 1- Placer le nombre requis de barrettes dans le support en plastique. Identifier minutieusement les puits destinés aux contrôles, à l'étalon et aux échantillons.
- 2- Laisser vide le puits A1 pour les blancs.
- 3- Distribuer au moyen d'une pipette150 µl de contrôle négatif dans trois puits, 150 µl de l'étalon dans deux puits, 150 µl de contrôle positif dans un puits, puis 150 µl de chaque échantillon.
- 4- Vérifier à l'œil nu que les puits contiennent bien les échantillons par une lecture à 450 / 620nm.
- 5- Distribuer 100 μl de conjugué enzymatique dilué dans tous les puits, à l'exception du puits A1 utilisé pour les blancs.
- 6- Après l'ajout du conjugué, vérifier que la couleur des échantillons a viré d'une couleur jaunâtre au rouge puis incuber la microplaque pendant120 minutes à + 37°C.
- 7- Après la première incubation, laver les micropuits.
- 8- Distribuer au moyen d'une pipette200 µl de chromogène /substrat dans tous les puits, y compris le puits A1.
- 9- Incuber la microplaque à l'abri de la lumière à une température se situant entre 18°C et 24°C. Les puits contenants le contrôle positif, l'étalon et les échantillons positifs vireront d'une couleur transparente au bleu.
- 10- Distribuer au moyen d'une pipette 100 µl d'acide sulfurique dans tous les puits pour arrêter la réaction enzymatique, en suivant le même ordre de pipetage que dans l'étape 8. L'ajout de la solution acide fera virer le contrôle positif, l'étalon et les échantillons positifs du bleu au jaune / brun.
- 11- Mesurer l'intensité de la couleur de la solution dans chaque puits à l'aide d'un filtre à 450 nm (lecture) et d'un filtre à 620 nm. Pour

l'analyse de la détection de l'antigène HBs sur DBS avec le kit Dia.pro® antigène HBs version ULTRA, l'éluat de DBS a été traité comme un échantillon de sang total et a été analysé selon le mode opératoire du fabricant.

# Interprétation des résultats

Il a été établit une fiche résultat de sérologie adaptée aux DBS et c'est avec cette fiche que nos résultats ont été interprétés.

❖ Présentation d'une carte DBS et comparaison des prélèvements classique et DBS

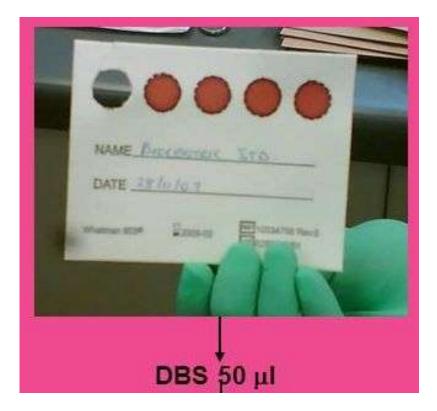


Figure 4: Image du papier buvard ou dried bloods spot (DBS) [18].

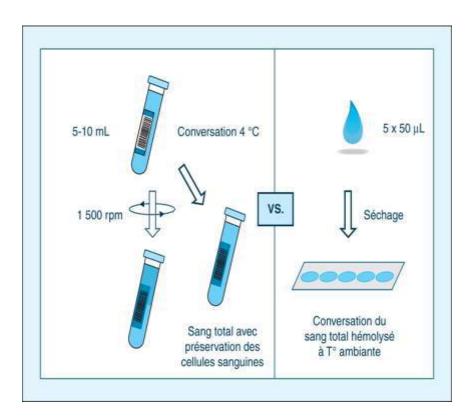


Figure 5: Comparaison du prélèvement sanguin sur (DBS) vs prélèvement de sang classique [18].

# II-4. Analyses des données

## ❖ Détermination de la valeur seuil

Pour analyser les résultats des éluats de DBS nous avons déterminé des ratios à partir des éluats de DBS de chaque échantillon. Ces échantillons ont été recueillis au Centre National de Transfusion Sanguine à Abidjan.

Nous avons analysé les éluats de ces DBS avec le kit Dia.pro® et obtenu les densités optiques. Par la suite, nous avons calculé la valeur seuil des échantillons à partir des normes appliquées au plasma ou au sérum et déterminé le ratio par la formule suivante:

Ratio = Densité Optique / Valeur Seuil.

Tous les échantillons donnant une valeur de ratio en-dessous du seuil retenu sont considérés comme négatifs par le test.

Tous les échantillons donnant une valeur de ratio au-dessus du seuil retenu sont considérés comme positifs par le test.

Nous avons évalué les performances aux seuils suivants: 1; 3; 5; 10.

## \*Performance technique

La détection du VHB dans les échantillons de plasma a été utilisée comme référence pour l'évaluation de la sensibilité et de la spécificité pour le test DBS. La concordance entre les résultats obtenus pour les échantillons de DBS et les ratios obtenus sur DBS a été établie à l'aide de l'indice kappa.\*

Ces performances techniques sont la sensibilité, la spécificité, et le kappa. Ils ont été calculés à partir du tableau de contingence (**tableau II**).

- La sensibilité (Se) est la capacité du test évalué à détecter correctement les échantillons contenant des anticorps ou antigènes.
- La spécificité (Sp) est la capacité du test évalué à détecter correctement les échantillons ne contenant pas des anticorps ou antigènes.
- Le coefficient kappa (k) mesure l'accord entre les deux tests.

Tableau II: Calcul des performances du test sur DBS

		Test de référence				
		Positif Négatif TOTAL				
	Positif	Vrai Positif (A)	Faux Positif (B)	A + B		
Test à Evaluer	Négatif	Faux Négatif (C)	Vrai Négatif (D)	C + D		
	TOTAL	A + C	B + D	A + B + C + D		

$$Se = [A / (A + C)] \times 100$$

$$Sp = [D / (B + D)] \times 100$$

Le coefficient kappa (k) qui mesure l'accord entre les deux tests a été calculé à partir de la formule suivante [22].

$$K = \frac{Po - Pe}{1 - Pe}$$

 $P_0$  est la proportion de concordance observée qui correspond à la proportion des individus dans les cases diagonales de concordance du tableau de contingence soit la somme des effectifs diagonaux divisée par la taille de l'échantillon (n) avec:

$$P_0 = \sum_{i=1}^{r} P_{ij} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^{r} n_{ij}$$

$$P_0 = (A + D) / (A + B + C + D)$$

P<sub>e</sub> la proportion théorique de concordance est égale à la somme des produits des effectifs marginaux divisée par le carré de la taille de l'échantillon.

$$P_e = \sum_{i=1}^{r} Pi. Pj = \frac{1}{n^2} \sum_{i=1}^{r} ni. nj$$

$$P_e = [(A + B) x (A + C) + (C + D) x (B + D)] / (A + B + C + D)^2$$

Le coefficient k est toujours compris entre -1 et 1. Habituellement on utilise le «barème» suivant pour interpréter la valeur k obtenue [22].

< 0: Grand désaccord

[0.00 - 0.20]: accord très faible

[0,21 - 0,40]: accord faible

[0,41 - 0,60]: accord moyen

[0,61-0,80]: accord satisfaisant

[0,81-1,00]: accord excellent

# III. RESULTATS

Performances techniques

Les performances techniques du test Dia.pro® pour la détection de l'AgHBs sur DBS et plasma appariés sont présentées dans les tableaux III à VI.

**Tableaux III: Performances du test Dia.pro® avec Ratio = 1** 

		AgHBs sur plasma (CNTS)		
		Positifs	Négatifs	TOTAL
AgHBs sur	Positifs	34	108	142
DBS	Négatifs	0	7	7
	TOTAL	34	115	149

Sensibilité = 
$$[34 / (34 + 0)] \times 100 = 100 \%$$

Spécificité = 
$$[7/(108 + 7)] \times 100 = 6,09 \%$$

$$Kappa = 0.03$$

Sur DBS, le test Dia.pro® a montré une sensibilité de 100% et une spécificité de 6,09%.

L'accord entre le test effectué sur le plasma et le DBS était très faible.

Ce test présente des performances de sensibilité excellente et de spécificité très faible au ratio 1.

# **Tableaux IV: Performances du test Dia.pro® avec Ratio = 3**

		AgHBs sur plasma (CNTS)		
		Positifs	Négatifs	TOTAL
AgHBs sur	Positifs	34	61	95
DBS	Négatifs	0	54	54
	TOTAL	34	115	149

Sensibilité = 
$$[34 / (34 + 0)] \times 100 = 100 \%$$

Spécificité = 
$$[54 / (61 + 54)] \times 100 = 47 \%$$

$$Kappa = 0,50$$

Sur DBS, le test Dia.pro® a montré une sensibilité de 100 % et une spécificité de 47 %.

L'accord entre le test effectué sur le plasma et le DBS était moyen.

Ce test présente des performances de sensibilité excellente et de spécificité faible au ratio 3.

**Tableaux V: Performances du test Dia.pro® avec Ratio = 5** 

		AgHBs sur plasma (CNTS)		
		Positifs	Négatifs	TOTAL
AgHBs sur	Positifs	34	20	54
DBS	Négatifs	0	95	95
	TOTAL	34	115	149

Sensibilité = 
$$[34 / (34 + 0)] \times 100 = 100 \%$$

Spécificité = 
$$[95 / (20 + 95)] \times 100 = 83\%$$

$$Kappa = 0.68$$

Sur DBS, le test Dia.pro® a montré une sensibilité de 100 % et une spécificité de 83 %.

L'accord du test effectué sur le plasma et le DBS s'est révélé satisfaisant.

Ce test présente des performances de sensibilité excellente et de spécificité moyenne au ratio 5.

# Tableaux VI: Performances du test Dia.pro® avec Ratio = 10

		AgHBs sur plasma (CNTS)		
		Positifs	Négatifs	TOTAL
AgHBs sur	Positifs	34	0	34
DBS	Négatifs	0	115	115
	TOTAL	34	115	149

Sensibilité = 
$$[34 / (34 + 0)] \times 100 = 100 \%$$

Spécificité = 
$$[115 / (0 + 115)] \times 100 = 100 \%$$

$$Kappa = 1$$

Sur DBS, le test Dia.pro® a montré une sensibilité et une spécificité de 100 %. De plus l'accord entre le test effectué sur le plasma et le DBS était excellent.

Ce test présente donc les meilleures performances au ratio 10.

# Tableau VII: Bilan des performances techniques sur DBS.

Valeur du Ratio	Sensibilité	Spécificité	Kappa
Ratio = 1	100%	6,09%	0,03
Ratio = 3	100%	47%	0,50
Ratio = 5	100%	83%	0,68
Ratio = 10	100%	100%	1

#### **IV.DISCUSSION**

L'infection au virus de l'hépatite B est une infection très répandue dans le monde et reste un problème de santé publique [42]. L'hépatite B est endémique en Côte d'Ivoire. Il est important de faire correctement le diagnostic étant donné les complications possibles de la maladie.

Des tests diagnostiques rapides (TDR) de l'hépatite B sont disponibles sur le marché. Ces tests qui ne nécessitent aucun équipement et n'exigent qu'une petite quantité de sang prélevé par piqûre au bout du doigt, apportent une solution à la difficulté d'accès au laboratoire et au problème que représente la faible proportion de patients qui reviennent pour obtenir leur résultat [29]. Cependant, ces TDR doivent faire l'objet d'un contrôle qualité et d'une évaluation externe de la qualité.

Il a été montré que les anticorps humains stockés sur DBS sont stables à la température ambiante pendant des mois Uttayamakul et Coll. [2005]. Aussi grâce à sa petite taille le prélèvement sur DBS est une solution intéressante pour faciliter le transport et la conservation des échantillons dans les laboratoires. Cela rend potentiellement l'échantillon DBS approprié pour l'évaluation externe de la qualité et le contrôle qualité. De plus, il présente un faible caractère invasif compatible avec les personnes à faible caractère veineux comme les personnes âgées et les enfants, en plus d'un faible coût de réalisation [22].

Nous nous sommes alors proposé dans cette étude d'évaluer la détection de l'antigène HBs sur le support DBS dans le but de leur utilisation pour le contrôle qualité des TDR.

## Données biologiques

Sur les échantillons de DBS, le test Dia.pro® a présenté un accord excellent avec un coefficient kappa de 1 au ratio 10.

Les résultats de sensibilité présentés dans notre étude différaient légèrement d'une étude récente menée par Brown et al. [7] qui a évalué la sensibilité et la spécificité de la méthode de collecte de DBS avec l'analyse pour le dépistage du VHB. Les résultats de sensibilité rapportés dans leur étude étaient de 98% pour l'antigène HBs. La spécificité était de 100 %.

Le type de tampon d'élution est également un facteur important pour un dosage précis.

Dans la présente étude, nous avons utilisé dans une première étape le tampon PBS / tween qui a donné des résultats positifs même avec des cartes DBS vierges (sans plasma). Ces anomalies n'ont pas été observées avec le tampon PBS / SVNN qui a été utilisé pour la suite de l'étude.

Forbi et al. [2010] ont également employé le PBS comme tampon d'élution et ELISA pour la détection de l'antigène HBs dans des échantillons de DBS, mais ce test présentait une sensibilité de 78,6% et une spécificité de 88,6%.

Mahfoud et al. **[2010**] ont utilisé du PBS contenant 0,05% de tween et 0,005% d'azoture de sodium pour la détection de l'antigène HBs par ELISA, mais les échantillons appariés de sérum et de DBS n'ont pas été comparés pour déterminer la sensibilité et la spécificité de ces tests.

Les autres paramètres évalués étaient le diamètre du disque et le volume du tampon d'élution.

Dans la présente étude des disques de 6 mm de diamètre et un volume de 700 µl de tampon d'élution ont été utilisé pour la détection de l'antigène HBs par la technique ELISA.

Komas et al. [2010] ont également utilisé des disques de 6 mm de diamètre pour la détection de l'antigène HBs par MEIA, tandis que Mendy et al. [2005] ont utilisé des disques de 6 mm de diamètre pour la détection de l'antigène HBs par IQA. Cependant, les deux auteurs ont utilisé un petit volume de tampon d'élution (500 ml) par rapport à la présente étude (700 ml), probablement parce que les méthodes de détection étaient différentes.

Le dosage en volume était un autre facteur important pour la reproduction des résultats, car le papier filtre contient un petit volume de sérum dilué dans le tampon d'élution.

Le dosage en volume n'a pas été fait en évaluant l'antigène HBs dans des échantillons de DBS obtenus chez des individus du Nigeria, tout comme dans la présente étude.

Selon Crowther [2001], un test avec une sensibilité diagnostique de 99 % est souhaité, un minimum de 99 individus est nécessaire. Dans cette étude 149 échantillons ont été utilisé pour évaluer la sensibilité du diagnostic de l'antigène HBs du VHB testés. Cependant, les auteurs n'ont pas mentionnés les méthodes d'analyses.

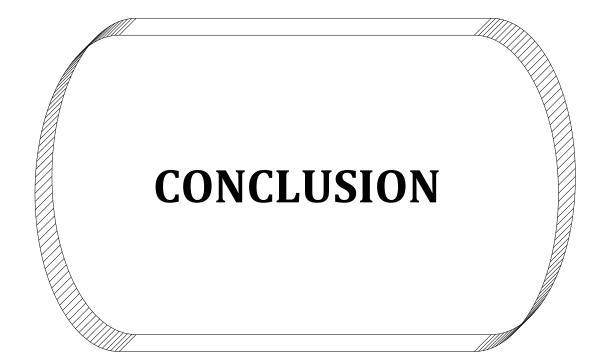
Les DBS semblent être très stables dans le temps, sans changement dans les résultats jusqu'à 63 jours après la collecte des échantillons à toutes les températures de stockage. Dans la présente étude, les DBS ont été conservés pendant 2 ans dans des sacs scellés. Probablement la longue durée de conservation des DBS n'a pas affecté la performance de la méthode.

Les études menées par Villa et al. [1981] et Mendy et al. [2005], ont montré que les marqueurs HBV étaient stables dans les DBS conservés à température ambiante pendant 180 jours en utilisant RIA et pendant 4 semaines à 378°C en utilisant IQA, respectivement.

Les performances du Dia.pro® sur DBS montrent que les DBS peuvent être utilisés pour le contrôle qualité au cours des enquêtes de terrain mais aussi pour l'évaluation externe de la qualité. Les DBS peuvent être confectionné lors de la réalisation du TDR et peuvent permettent ainsi d'éviter un prélèvement invasif. De plus, d'un point de vue économique, l'utilisation du DBS permet une réduction importante des coûts en raison de la facilité de transport et de conservation.

## Limite de l'étude

La principale limite de notre étude était la taille faible de notre échantillon qui ne permet pas d'avoir la taille statistique.



Le travail réalisé durant cette thèse avait pour objectifs d'évaluer la détection de l'antigène HBs sur DBS par le test immunoenzymatique Dia.pro® (Diagnostic Bioprobes), d'évaluer la sensibilité du dépistage de l'antigène HBs sur DBS, d'évaluer la spécificité du dépistage de l'antigène HBs sur DBS, et enfin de déterminer la valeur seuil pour le diagnostic de l'hépatite B sur DBS. Il s'agit en effet de répondre à l'impératif de la prise en charge de l'infection à VHB.

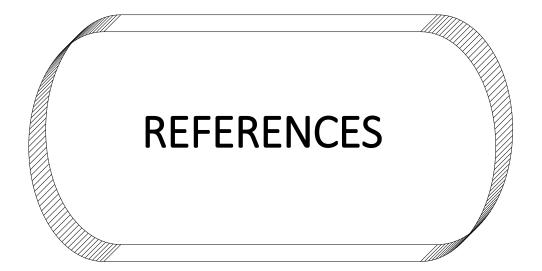
Nous avons évalué les performances du Dia.pro® sur DBS dans le but de les utiliser pour assurer ce contrôle.

Nos résultats ont montré que sur DBS le diagnostic de l'antigène HBs avec le kit Dia.pro® a présenté une bonne performance analytique au ratio 10.

Les DBS peuvent donc être utilisés comme mode de prélèvement pour assurer le contrôle qualité des TDR.

Les perspectives qui découlent de notre étude sont:

- d'augmenter la taille de notre échantillon.
- -d' envisager la validation sur support DBS des analyses réalisées en routine au laboratoire.



- 1. **Abdel-Hady M, Kelly D.** Chronic hepatitis B in children and adolescents: epidemiology and management. PaediatrDrugs2013; 15(4): 311-7
- 2. Aubry P, Gauzère B-A. Hépatites virales en zones tropicales : actualité 2017. Med Trop [internet] 2017[consulté le 09/12/2017]. Disponible sur : http://medecinetropicale.free.fr/cours/hepatite\_virale.pdf
- 3. Alter MJ. Epidemiology and prevention of hepatitis B. Semin Liver Dis 2003; 23(1): 39-46.
- 4. Brechot C, Pol S. Hépatites virales. Paris:Estem; 1993. 168 p.
- 5. **Balian A**. Hépato-Gastro-Entérologie : médicale et chirurgicale 7<sup>éme</sup> édition. Paris: Vernazobres-Grego; 2010. 627p.
- 6. Bazin C, Malet J. Donner son sang en France [internet], 3<sup>e</sup> éd. Recherches et Solidarités; 2006 [consulté le 12/02/2018]. 38p. Disponible sur : <a href="https://www.recherches-solidarites.org/media/uploads/donnersonsangen2006.pdf">https://www.recherches-solidarites.org/media/uploads/donnersonsangen2006.pdf</a>
- 7. **Brown BS, Klapper PE, Guiver M**. Development of diagnostic serological and molecular screening from dried blood spots for HC, HIV, HBV and syphilis. J ClinVirol2009; 44(suppl1):S27-S28.
- 8. CandranelJCF; Caron C; Gallot G. Hépatite B: épidémiologie, histoire naturelle, biologie, surveillance du traitement. PathBiol1999; 47(9):917-27.
- 9. Colimon F. Virus de l'hépatite B. Rennes: Département de virologie CHU de Rennes; 2002. 89p.

- 10. Chevalie S, Pawlotsky J-M. Place des outils virologiques dans la prise en charge de l'hépatite chronique B. Hépato-Gastro & Oncologie Digestive 2008; 14 (5):16-22.
- 11. Caggana M, Conroy JM, Pass KA. Rapid, efficient method for multiplex amplification from filter paper Hum Mutat 1998;11(5):404-9.
- 12. **El-Serag HB**. Epidemiology of viral hepatitis and hepatocellular carcinoma Gastroenterology 2012; 142(6):1264-1273.e1.
- 13. Etchepare M. La lutte contre le sida en Afrique : perspectives et responsabilités. Med Trop 2004; 64 (6): 579.
- 14. Fonds des Nations Unies pour l'Enfance, Organisation Mondiale de la Sante. Déclaration conjointe OMS-UNICEF-FNUAP sur l'emploi de seringues autobloquantes dans les services de vaccination [internet]. Genève : OMS ; 1999 [consulté le 05/11/2017]. Disponible sur :http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/63800/WHO\_VB\_99.25\_fre .pdf?sequence=1&isAllowed=y
- 15. **Gentillini M**. Les hepatitis virales in Méd Trop; Flammation 2<sup>nd</sup>, paris 1993.
- 16. Huraux JM, Nicolas J-C, Agut H, Peigue-Lafeuille H. Traité de virologie médicale. Paris: ESTEM; 2003; 699p.
- 17. **Hilaire S**. Infection occulte par le virus de l'hépatite B. Hepato Gastro 2006; 13(2): 87-90.

- 18. Haute Autorité de Santé. Stratégie de dépistagebiologique des hepatitesvirales B et C: synthèse, avis des groupes de travail et de lecture et recommendation de la HAS [internet]. Saint-Denis: HAS; 2011[consulté le 12/07/2018].30p. Disponiblesur: https://www. has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2012-01/strategies de depistagebiologique des hepatitesvirales b et c-synthese.pdf
- 19. **Kouassi M'Bengue et al**. Publication N°12 BIO- AFRICA- 2012 pdf. Revue Bio-Africa-N° 10- 2012, pp.40-60 20.
- 20. Lakshmi V, Sudha T, Bhanurekha M, DandonaL. Evaluation of the Murex HIV Ag/Ab combination assay when used with dried blood spots. ClinMicrobiol Infect 2007; 13(11): 1134-6.
- 21. Lewis JD, Anfield KB, Sifri CD. Hepatitis B in healthcare workers: transmission events and guidance for management. World J Hepatol 2015; 7(3): 488-97.
- 22. Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. Biometrics 1977; 33(1):159-74.
- 23. Lohoues KouacouMJ, Hillah J, Camara BM, N'Dri N, Kouame KJ, et al. [Materno fetal transmission of hepatitis B virus in Ivory coast. Plea for mass vaccination]. Santé 1998; 8(6):401 4.
- 24. Maynard JE, Kane MA, HadlerSC. Global control of hepatitis B through vaccination: role of hepatitis B vaccine in the Expanded Programme on Immunization. Rev Infect Dis 1989; 11 (Suppl3): S574-8.

- 25. Mei JV, Alexander JR, Adam BW, Hannon WH. Use of filter paper for the collection and analysis of human whole blood specimens. J Nutr 2001;131(5):1631S-6S.
- 26. Niederau K, Heintges T, Lange S,Goldmann G, Niederau CM, Mohr L, et al. Long-term follow-up of HBeAg-positive patients treated with interferon alfa for chronic hepatitis B. N Engl J Med 1996; 334(22): 1422-7.
- 27. Organisation Mondiale de la Santé. Hépatite B : aide-mémoire N° 204. Genève : OMS ; 2015.
- 28. Ott JJ, Stevens GA, Groeger J, wiersma ST. Global epidemiology of hepatitis B virus infection: new estimates of age specific HBsAgSeroprevalence and endemicity. Vaccine 2012; 30(12): 2212 9.
- 29. Organisation Mondiale de la Sante. Utilisation des tests diagnostiques rapides de la syphilis [internet]. Genève : OMS ; 2006 [consulté le 05/03/2018]. Disponible sur :

http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/43710/TDR\_SDI\_06.1\_fre.pdf;js essionid=E72AB24D6BD7ED21CAA4DF750311FB4E?sequence=1

30. Organisation Mondiale de la Sante. Hépatite B : principaux faits [internet]. Genève : OMS ; 2018 [consulté le 14/03/2018]. Disponible sur : http://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-b

- 31. **Organisation Mondiale de la Sante**. Lignes directrices pour la prévention, les soins et le traitement en faveur des personnes atteintes d'une infection à l'hépatite B : mars 2015 [internet]. Genève : Organisation Mondiale de la Santé. 2018 [consulté le 12/02/2018]. Disponible sur :http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/260296/9789242549058-fre.pdf?sequence=1
- 32. Organisation Mondiale de la Santé. Hépatite B [internet]. Genève : OMS ; 2018 [consulté le 12/06/2018]. Disponible sur : http://www.who.int/vaccine\_safety/committee/topics/hepatitisb/fr/
- 33. Pascal JP. Transmission et prévention des hépatites virales. Rev Prat 1995 ; 45 :174-6.
- 34. Petersen NJ, Barrett DH, Bond WW, Berquist ER, Favero MS, Bender TR, et al. Hepatitis B surface antigen in saliva, impetiginouslesions, and the environment in tworemote Alaskan villages. Appl Environ Microbiol1976; 32(4): 572-4.
- 35. **Pascal G, Dominique S, Gilles P**. Co-infection VIH-VHC à l'hôpital : enquête nationale, juin 2001. Paris : Institut de Veille Sanitaire; 2002. 345p.
- 36. Poynard T, Ratziu V, Moussalli J, Regimbeau C, Di Martino V, Benhamou Y et al. Biochemical markers of liverfibrosis in patients infected by hepatits C, Virus: longitudinal validation in a randomised trial J. Viral Hepatitis 2002; 9: 128 33.

- 37. Rockstroh JK, Bhagani S, Benhamou Y, Bruno R, Mauss S, Peters L, et
- **al**. European AIDS Clinical Society (EACS) guidelines for the clinical management and treatment of chronic hepatitis B and C coinfection in HIV-infected adults HIV Med 2008; 9(2): 82-8.
- 38. Summers S; Mason WS. Replication of the genome of a hepatitis B like virus by reverse transcription of an RNA intermediate Cell 1982;29 (2):403-15
- 39. Schwartz D. Méthodes statistiques à l'usage des médecins et des biologistes. Paris: Médecine-Sciences; 1993. 314p.
- 40. Taylor L, Gholam P, Delong A, Rompalo A, Klein R, Schuman P, et al. Occult hepatitis B virus (HBV) and hepatitis C virus (HCV) viremia in women with and at-risk for HIV/AIDS [internet]Slideplayer [consulté le 12/08/2018]Disponiblesurhttps://slideplayer.com/slide/7621155/
- 41. World Health Organization. Hépatite B vaccines Wkly EpidemiolRec 2004; (28): 255-264.
- 42. World Health Organization. Global policy report on the prevention and control of viral hepatitis: in WHO Member States. Geneva: WHO; 2013. 220p.
- 43. World Health Organization. Hepatitis B surfaces antigen assays; operational characteristics (phase I)[internet]. Genève: WHO; 2001 [consulté le 22/06/2018]. Disponible sur:http://www.who.int/diagnostics\_laboratory/publications/hbsag\_report1.pdf
- 44. Yun-Fan L, Chia-Ming C. Hepatitis B virus infection. Lancet 2009; 73: 582-92.

- 45. Yapo A, Assayi M, Aka N, Bonetto R, Comoe L, Lonsdorfer A, et al. Les valeurs de références de 21 constituants biochimiques sanguins de l'ivoirien adulte présumé sain. Publications Médicales Africaines 1990 ; 110 : 49-57.
- 46. **Yuen M, Sablen E, Yuan H, Hui C, Ken J**. Relationship between the development of precore and core promoter Mutations and hepatitis B e antigeneseroconversion in patients with chronic hepatitis B virus. The journal of infection diseases 2002; 186:1335–9
- 47. **Zuckerman AJ**. Hepatitis virusesIn: Baron S, ed. Medical Microbiology [internet]. 4<sup>th</sup> edition Galveston: University of Texas Medical Branch at Galveston; 1996 [consulté 10/11/2017]. Disponible sur:https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7864/

## **RESUME**

Les Dried Blood Spots (DBS) sont des papiers filtres qui permettent de collecter et conserver du sang total. Ils facilitent le transport et la conservation des échantillons et sont exploités pour le contrôle qualité lors des enquêtes sérologiques. Cependant, les DBS requièrent l'utilisation de tests ayant une bonne sensibilité adaptée à ce support.

L'objectif de notre étude était d'évaluer la détection de l'antigène HBs sur DBS par le test immunoenzymatique Dia.pro® (Diagnostic Bioprobes).

L'étude s'est déroulée du mois d'Août 2016 au mois de Novembre 2017. Nous avons évalué la détection de l'antigène HBs à partir des échantillons de notre panel collectés et stockés. Le panel d'évaluation comprenait 149 échantillons pour lesquels les résultats plasmatiques à l'antigène HBs étaient reconnus. Après la confection des DBS, les spots élués ont permis de réaliser le test ELISA avec le coffret Dia.pro® AgHBs version ULTRA. Les résultats obtenus sur le DBS ont été comparés à ceux obtenus sur le plasma.

Les résultats de l'évaluation de l'antigène HBs sur DBS ont révélé une sensibilité de 100% et une spécificité de 100% avec ratio seuil de 10. Par ailleurs l'accord entre le test effectué sur le plasma et l'éluat de DBS était excellent (kappa = 1).

Nos résultats indiquent que le test Dia.pro® peut être utilisé pour le diagnostic de l'hépatite virale B sur DBS notamment lors de contrôle qualité d'enquêtes séroépidémiologiques.

MOT CLES: **HEPATITE B - DEPISTAGE DRIED BLOOD SPOTS-ABIDJAN.**