

**ECOLE NATIONALE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE
DU MALI**

Année 1982

No...2.....

**CONTRIBUTION A L'ETUDE DE LA TRANSMISSION VERTICALE
DE L'HEPATITE VIRALE B : PREVALENCE CHEZ 1253
JEUNES FEMMES AGEES DE 14 A 30 ANS**

THESE

**Présentée et soutenue publiquement le 24 Février 1983
devant l'Ecole Nationale de Médecine et de Pharmacie du Mali**

Par :

Mr. Kalifa SANOGO

Pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie

(DIPLOME D'ETAT)

EXAMINATEURS :

PRESIDENT	Professeur	Humbert GIONO - BARBER
	Docteur	N'Golo TRAORE
MEMBRES	Professeur	Bernard DUFLO
	Professeur	Bréhima KOUMARE

ECOLE NATIONALE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE DU MALI.

ANNEE ACADEMIQUE : 1982-1983.

Directeur Général : Professeur Aliou BA
Directeur Général Adjoint : Professeur Bocar SALL
Secrétaire Général : Monsieur Sory COULIBALY
Econome : Monsieur Philippe SAYE
Conseiller Technique : Professeur Philippe RANQUE

PROFESSEURS MISSIONNAIRES

Professeur Sadio SYLLA : Anatomie
" Francis MIRANDA : Biochimie
" Michel QUILICI : Immunologie
" Humbert GIONO-BARBER Pharmacodynamie
" Jacques JOSSELIN : Biochimie
" J.P. MARTINEAU : Physiologie
" Alain GERAULT : Biochimie
Docteurs Bernard LANDRIEU : Biochimie
" Gérard TOURAME : Psychiatrie
" Jean-Pierre BISSET : Biophysique
Mesdames Paula GIONO-BARBER : Anatomie-Physiologie Humaines
" Thérèse FARES : Anatomie-Physiologie Humaines
Monsieur Mackthar WADE : Bibliographie
Docteur Emile LOREAL : O.R.L.

PROFESSEUR RESIDANT A BAMAKO

Professeur	Alicou BA	: Ophtalmologie
"	Bocar SALL	: Orthopédie-Traumatologie-Sécurisme
"	Mamadou DAMBELE	: Chirurgie Générale
"	Mohamed TOURE	: Pédiatrie
"	Souleymane SANGARE	: Pneumo-Physiologie
"	Mamadou KOUMARE	: Pharmacologie-Matière Médicale
"	Mamadou Lamine TRAORE	: Obstétrique-Médecine-Légale-Chirurgie
"	Aly GUINDO	: Gastro-Entérologie
"	Abdoulaye AG-RHALY	: Médecine Interne
"	Sidi Yaya SIMAGA	: Santé Publique
"	Sinè BAYO	: Histo-Embryologie-Anatomie Pathologie
"	Abdel Karim KOUMARE	: Anatomie-Chirurgie Générale
"	Bréhima KOUMARE	: Bactériologie
"	Mamadou Kouréissi TOURE	: Cardiologie
"	Yaya FOFANA	: Hématologie
"	Philippe RANQUE	: Parasitologie
"	Bernard DUFLO	: Patho.Méd.Thérapeut.Physio.Hémato.
"	Robert COLOMAR	: Gynécologie-Obstétrique
"	Bouba DIARRA	: Microbiologie
"	Salikou SANOGO	: Physique
"	Niamanto DIARRA	: Mathématique
"	Oumar COULIBALY	: Chimie Organique.

ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUES

Docteur Abderhamane Sidèye MAIGA	: Parasitologie
" Sory Ibrahima KABA	: Santé Publique
" Moctar DIOP	: Sémiologie Chirurgicale
" Balla COULIBALY	: Pédiatrie-Médecine du travail
" Bénitiéni FOFANA	: Obstétrique
" Boubacar CISSE	: Dermatologie
" Boubacar CISSE	: Toxicologie-Hydrologie
" Souleymane DIA	: Pharmacie Chimique
" Yacouba COULIBALY	: Stomatologie
" Sanoussi KONATE	: Santé Publique
" Issa TRAORE	: Radiologie
" FERRACCI	: Dermatologie-Vénérologie-Léprologie
" Mme SY Aïssata SOW	: Gynécologie
" Jean Pierre COUDRAY	: Psychiatrie
" Mahanane MAIGA	: Néphrologie
" Abdoul Alassane TOURE	: Chirurgie Orthopédique-Traumatologie

CHARGES DE COURS

Docteur Gérard GAUCHOT	: Microbiologie
" Gérard TRUSCHEL	: Anatomie-Sémiologie-Chirurgicale
" Boukassoum HAIDARA	: Galénique-Diététique
" Philippe JONCHERES	: Urologie
" Saïbou MAIGA	: Galénique
" Abdoulaye DIALLO	: Gestion-Législation
Professeur N'Gole DIARRA	: Botanique-Cryptogamie-Bio-Végétale
" Souleymane TRAORE	: Physiologie Générale
Monsieur Cheick Tidiani TANDIA	: Hygiène du Milieu.

JE DEDIE CE TRAVAIL

A MON PERE ZANA SANOGO
A MA MERE KOUYA SANOGO
A MES ONCLES GOURO SANOGO et N'TIO DISSA
A MES TANTES RAMATA SANOGO et KADIDIA SANOGO

Vous qui avez bien voulu me tracer cette voie
et qui avez tout mis en oeuvre pour me diriger la dedans.
Vous m'avez prodigué tous les conseils nécessaires à la
bonne marche vers un lendemain meilleur.

Ce travail est le fruit de vos labeurs.

A MES FRERES et SOEURS
A MES COUSINS et COUSINES

J'espère que ce travail, qui est d'ailleurs le
vôtre, servira d'exemple aux uns et aux autres.
Que le Bon Dieu nous laisse toujours unis par ces rapports
fraternels qui ont de tout temps existé entre nous.
De peur de ne pas en omettre, je me suis sciemment gardé
de ne citer aucun nom ici.

A MES ONCLES et TOUTES LEURS FAMILLES

A TOUS MES PARENTS et GRANDS PARENTS

Vos soutiens moral et matériel ne m'ont jamais fait défaut. Que vous en soyez remercié. Vous pouvez considérer ce travail comme une propriété à vous. Sachez que je resterai à votre service n'importe où que mon concours sera sollicité.

A MES CAMARADES et AMIS

A TOUS LES ETUDIANTS DE L'ECOLE DE MEDECINE et DE PHARMACIE ; SINGULIEREMENT A MES CAMARADES DE PROMOTION

Vous m'excuserez pour n'avoir reçu que ces quelques lignes en témoignage de mes sincères remerciements. Les mots me manquent pour faire mieux.

Je profite de cette occasion pour souhaiter à vous tous bon succès.
Courage.

AU PROFESSEUR ALIOU BA: Directeur de l'E.N.M.P.
A TOUT LE CORPS PROFESSORAL DE l'E.N.M.P.
A TOUT LE PERSONNEL DE LA DIRECTION et DU SECRETARIAT
A TOUS CEUX QUI, DE PRES OU DE LOIN ONT CONTRIBUE A
MA FORMATION, A QUELQUE NIVEAU QUE CE SOIT

Recevez là ma profonde gratitude.

A MONSIEUR SOULEYMANE TRAORE et A TOUS LES TRAVAILLEURS
DU CENTRE NATIONAL DE TRANSFUSION SANGUINE DE BAMAKO
A MONSIEUR DRAMANE DIALLO et A TOUTE SA FAMILLE
A MESDAMES LALLA SY et AMINATA DIAKITE
A TOUS LES TRAVAILLEURS DES LABORATOIRES DE L'HIPPODROME
et DE BAMAKO-COURA

Votre très franche collaboration ne sera jamais
oubliée. Elle a été des plus utiles dans l'élaboration de
ce travail. Je vous demanderai ici en réponse, d'accepter
mes sentiments les plus distingués.

AU PROFESSEUR P. FREI: Centre Hospitalo-Universitaire Vaudois
de Lausanne (SUISSE)
AU PROFESSEUR PIERRE TIOLLAIS: Institut Pasteur de Paris

Vous qui, malgré vos multiples occupations, avez
accepté de faire l'analyse de nos sérums. Je vous présente
mes excuses pour les problèmes rencontrés lors de cette
analyse et vous dis une fois de plus merci; dans l'impos-
sibilité de faire ici un long discours.

A NOTRE PRESIDENT DE JURY: Professeur H. GIONO-BARBER
Chaire de Pharmacologie et de Pharmacodynamie
Université de Dakar.

Je suis très sensible en l'honneur que vous me faites ici en acceptant de présider ce jury. Avec les autres membres, vous aurez à mettre la dernière main dans l'élaboration de ce travail. Vos critiques et suggestions seront les bien venues.

Veillez agréer, l'expression de notre profonde gratitude.

AU DOCTEUR N'GOLO TRAORE: Ministre de la Santé Publique
et des Affaires Sociales.

Malgré vos multiples occupations, vous avez accepté de siéger dans ce jury. Comme vous l'avez toujours souhaité, nous ne ménagerons aucun effort pour la réunion de nos forces dans le but de procurer la santé à tous les maliens.

Tous nos remerciements et notre profonde reconnaissance.

AU PROFESSEUR BERNARD DUFLO

Plus que membre de ce jury, vous avez été un collaborateur dans l'élaboration de ce travail. Votre bon sens de médecin avisé, vous a permis de tenir ces rapports étroits entre nous.

Veillez recevoir, l'expression de nos sincères remerciements.

AU PROFESSEUR EREHIMA KOUMARE

Vous avez su choisir ce sujet au bon moment. Vous nous avez initié à ce travail en nous suivant du début à la fin; tout en mettant vos connaissances à notre disposition.

En bon maître que vous avez été, soyez sûr que vos pas seront suivis.

Nous vous exprimons notre profonde reconnaissance et nos sincères remerciements.

S O M M A I R E

	<u>Page</u>
LEXIQUE	
I. INTRODUCTION	1
II. LES MARQUEURS SEROLOGIQUES DE L'HEPATITE B	6
2.1 Le virus	7
2.2 Le système HBcAg/anti HBc	11
2.3 Le système delta	12
2.4 Le système HBsAg/anti HBs	12
2.5 Le système HBeAg/anti HBe	14
2.6 L'ADN et l'ADN polymérase	16
2.7 Chronologie de l'apparition des différents marqueurs de HBV	17
2.8 Interprétation des marqueurs sériques	18
2.9 Suivi serodiagnostique d'une hépatite virale aiguë	21
III. IMMUNOLOGIE DE L'HEPATITE B	22
IV. SUJETS ETUDIES ET METHODES	25
4.1 Sujets étudiés	26
4.2 Méthodes	32
V. RESULTATS	39
5.1 Résultats globaux	40
5.2 Age	40
5.3 Ethnie	45
5.4 Sexe	48
5.5 Résultats des analyses effectuées à Lausanne	50
5.6 Résultats des analyses effectués à Paris	51
VI. DISCUSSION	55
6.1 Taux obtenus ailleurs	56
6.2 Techniques utilisées	59
6.3 Intention d'une telle étude	61
VII. CONCLUSION	62
BIBLIOGRAPHIE	65

LEXIQUE

HAV	: hépatite virale A.
AgHA	: antigène de l'hépatite A.
IgM anti HAV	: anticorps IgM associé au virus de l'hépatite A.
HBV	: hépatite virale B.
AgHBs	: antigène de surface de l'hépatite B (antigène Australia).
Anti HBs	: anticorps associé à l'antigène de surface de l'hépatite B. (anticorps Australia).
AgHBc	: antigène du "core" de l'hépatite B.
Anti HBc	: anticorps associé au "core" de l'hépatite B.
AgHBe	: antigène "e" de l'hépatite B.
Anti HBe	: anticorps "e" de l'hépatite B.
ADN ou DNA	: acide désoxyribonucléique.
ADNP	: ADN polymérase.
ARN	: acide ribo nucléique.
Ag "δ"	: antigène "delta" de l'hépatite B.
NANB	: hépatite non A, non B.
C.P.F	: cancer primitif du foie.
E.I.D	: électro-immuno-diffusion.
E.L.I.S.A	: enzyme linked immuno sorbent assay (test immuno- enzymatique).
R.I.A	: radio immuno assay (test radio immunologique).

INTRODUCTION

C'est dans le cadre de la recherche des voies et moyens permettant d'atteindre l'objectif de l'organisation mondiale de la santé (OMS): "Santé pour tous d'ici l'an 2000", que nous avons choisi de nous intéresser à la transmission verticale de l'hépatite B. Cette infection, qui est en baisse dans les pays développés, constitue un problème de santé publique dans les pays du tiers monde et surtout en Afrique au Sud du Sahara et donc au Mali. Elle est même devenue une infection obligatoire (45 - 63).

D'une façon générale, la cause virale de l'hépatite a été établie en 1940 grâce à la transmission avec succès à des volontaires (32). C'est ainsi que des études faites en Allemagne en Grande Bretagne et aux Etats-Unis, ont permis d'identifier deux types d'hépatite: une hépatite infectieuse et une hépatite sérique, et Mac Callum en 1947 proposa le nom d'hépatite A (HAV) pour l'hépatite infectieuse et le nom d'hépatite B (HBV) pour l'hépatite sérique. Cette nomenclature fut adoptée par l'OMS en 1977.

L'hépatite A est moins connue en Afrique du fait de son caractère plus bénin et de la nouveauté de ses techniques de diagnostic (46). Cependant, des études ont montré que la contamination y est très précoce puisque 100% des enfants sont porteurs d'anticorps anti HAV dès l'âge de 5 ans. Ceci est en rapport avec les conditions d'hygiène, souvent défectueuses. C'est une hépatite d'incubation courte: 2 à 6 semaines (35), épidémique dont le mode de contamination est oro-fécal (72). Elle est due à un virus à ARN monocaténaire qui fut détecté dès 1973 par Feinstone et collaborateurs (35) dans les selles de malades atteints d'hépatite virale A. C'est une particule de 29nm qui fait partie des Entero picorna virus (pico = petit, rna = ARN: donc petit virus à ARN). Il est à symétrie cubique et ne présente que l'antigène HA. L'excrétion fécale du virus précède l'apparition de l'ictère. Il n'y a pas de porteur chronique de virus de l'hépatite A car huit jours après le début de l'ictère, le sujet n'élimine plus de virus dans les selles (72). Le virus de l'hépatite A n'a jamais été observé plus de trois semaines après la poussée de la jaunisse. Une prophylaxie passive contribue probablement à une diminution de l'incidence de l'infection du virus de l'hépatite A (46): relèvement des conditions socio-économiques, l'injection d'immunoglobuline (ISG) entre le septième et le dixième jour de l'exposition ou une vaccination.

L'hépatite B est l'infection induite par le virus de l'hépatite B (HBV) avec une très longue période d'incubation: 50 à 100 jours. C'est une infection contagieuse de l'homme (60). Elle représente un sérieux problème de santé publique dans le monde. Elle a été reconnue par l'OMS qui emploie de gros efforts pour sa prévention. C'est ainsi qu'elle a été le sujet des 10^è journées médicales de Dakar en 1980. Les enfants infectés avant l'âge de cinq ans courent le risque de devenir 5 fois plus porteurs chroniques que ceux qui sont infectés à un âge plus élevé. Les enfants de mères HBeAg positives sont ceux qui sont les plus exposés. La présence de cet antigène dans le sérum étant témoin de multiplication virale.

Il existe aussi un troisième type d'hépatite appelé hépatite non A non B (NANB). Elle est caractérisée par une incubation plus courte: 3 à 14 semaines avec une moyenne de 6 à 8 semaines (72). Elle est transmise par les transfusions et lors de l'accouchement avec contamination de l'enfant. Des particularités épidémiologiques, biologiques ou sérologiques semblent indiquer la responsabilité d'un ou plusieurs virus qui seraient apparentés au virus B du fait de la transmission par voie parentérale et en particulier post-transfusionnelle (63). Tout comme l'hépatite à HBV, elle peut conduire à la chronicité. Plusieurs auteurs considèrent que le passage à la chronicité est plus fréquent que dans l'HB, pouvant atteindre 30 à 50% des cas. En l'absence d'une technique spécifique de détection du ou des antigènes de l'hépatite NANB, un antigène a été décrit pendant la phase aiguë de l'infection, dans le serum et dans le foie (63 - 72). Trépo suggère une parenté entre l'antigène HBe₃ du virus HBV et le virus NANB, ainsi que entre les antigènes nucléocapsidiques HBe et NANBe (63). Des études faites au Japon ont permis de distinguer 2 formes d'hépatite NANB: une forme à longue incubation et une forme à courte incubation (53). Les changements cytoplasmiques étaient associés à la longue incubation et les changements nucléaires étaient associés à la courte incubation. Le diagnostic de l'hépatite NANB dépend de l'exclusion clinique des autres causes de lésions de la cellule hépatique et de l'exclusion sérologique des autres virus connus de l'hépatite (2).

Il faut également mentionner les cytomegalovirus (CMV), le virus Epstein Barr (EBV), le virus de la varicelle zona (V-Z), le virus de la rubéole, le virus de l'herpes simplex (HSV) comme agents d'hépatite (32).

En ce qui concerne le diagnostic de l'hépatite B, la découverte de l'antigène Australia aujourd'hui appelé antigène de surface du virus de l'hépatite B (HBsAg) par Blumberg B.S. en 1964 chez un polytransfusé a fourni un marqueur biologique permettant son identification (38). D'autres antigènes spécifiques du virus de l'hépatite B furent décrits plus tard par Levene et Blumberg, Le Bouvier, etc (62). C'est également dans ce cadre que Almeida mit en évidence ce deuxième antigène constitutif du virus: HBcAg, permettant à Hoofnagle de proposer la recherche des anticorps correspondants comme méthode complémentaire de diagnostic biologique de l'hépatite B (38). Magnius à son tour a décrit le système antigène e - anticorps anti e correspondant qui constitua un marqueur d'intérêt pronostique au cours des hépatites chroniques en 1972. L'infection au stade de chronicité chez le porteur est associée à des lésions du foie (60). On retrouve différents marqueurs sérologiques de HBV chez les porteurs asymptomatiques, au cours de l'hépatite chronique et pendant l'hépatite aiguë, dans les cirrhoses post hépatitiques. Dans le cancer primitif du foie (CPF), ils sont retrouvés chez 50 à 94% des sujets particulièrement en Afrique.

La transmission de l'hépatite B se fait par différentes voies grâce au sang et à ses dérivés. On pourra à cet effet retenir:

- l'inoculation directe, à l'aiguille, de sang ou de sérum infectieux, l'injection de produits dérivés de sang, le tatouage, le percement des lobules de l'oreille, l'acupuncture, la piqûre d'aiguille accidentelle après prélèvement.

- la transmission percutanée par le sang ou le sérum infectieux chez les personnes présentant des excoriations.

- la contamination muqueuse par le sang ou le sérum à l'occasion de pipettage, de projection dans les yeux.

- la contamination des surfaces muqueuses par les liquides de sécrétion infectieux autre que le sang ou le sérum: rapport sexuel ou toute autre forme de contact impliquant le sperme et la salive.

- la piqûre par des insectes contaminés (moustiques - punaises).
- la transmission à l'aide de rasoirs, de brosses à dents, de matériels de dentisterie, de récipients, de jouets.

Donc, tout facteur génétique est à écarter dans le mode de contamination et le rôle principal est joué par l'hygiène défectueuse et l'écologie (20). Les mois d'hivernage sont les plus favorables à la contamination. Le nouveau né a donc toutes les chances d'être infecté si sa mère est porteuse de HBsAg.

L'existence de ces multiples voies de contamination explique la fréquence de la transmission verticale c'est-à-dire la transmission in utero ou pendant la période périnatale de la mère à l'enfant qui fait le plus de porteur de HBsAg dans le monde (4).

Actuellement, il existe trois types de vaccin contre l'hépatite B qui ont donné de très bons résultats lors des expérimentations en ce qui concerne leur innocuité et leur efficacité (58). Ce sont les vaccins de Hilleman, de Maupas, et de Purcell. On pense que la vaccination contre l'hépatite B protégera contre le cancer primitif du foie. Des études sont en cours au Sénégal et un recul d'une vingtaine d'année est nécessaire pour en être réellement sûr.

Dans cette étude, nous avons voulu déterminer le niveau de portage de HBsAg chez les jeunes femmes de 14 à 30 ans dans la ville de Bamako. Quatre thèses ont déjà été consacrées au problème du portage de HBsAg dans la population Malienne (14 - 34 - 59 - 68). Tous ces auteurs ont utilisé comme technique de dépistage de HBsAg l'immunodiffusion (ID).

L'originalité de notre travail réside dans le choix de la population à examiner et dans la technique de dépistage utilisée: la technique ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) plus sensible que l'immunodiffusion.

II

LES MARQUEURS SEROLOGIQUES DE L'HEPATITE B

2.1. Le virus de l'hépatite B

Des études en 1940 sur des volontaires ont montré que l'hépatite B est une infection induite par HBV avec un très long temps d'incubation: 50-100 jours (23). Ce virus n'est pas infectieux par voie buccale et n'était transmis que par inoculation. Il est immunologiquement distinct de HAV. Il est caractérisé par la structure suivante (21-23):

- des particules sphériques de 20nm de diamètre
- des formes de tubules de 20nm de diamètre et variable en longueur (100nm ou plus).
- une double coquille: particule de Dane de 42nm.

La particule de Dane représente le virion complet. Elle est composée d'une enveloppe externe et d'une nucléocapside interne appelée core. L'enveloppe porte la spécificité antigénique HBs et le core à son tour porte la spécificité antigénique HBc. Le core qui est formé de polypeptides de 19.000 daltons a 27nm de diamètre (70) et comprend 32 à 92 capsomères (38). Il est de symétrie cubique et contient une enzyme: l'ADN polymérase, spécifique du virus de l'hépatite B et un ADN bicaténaire.

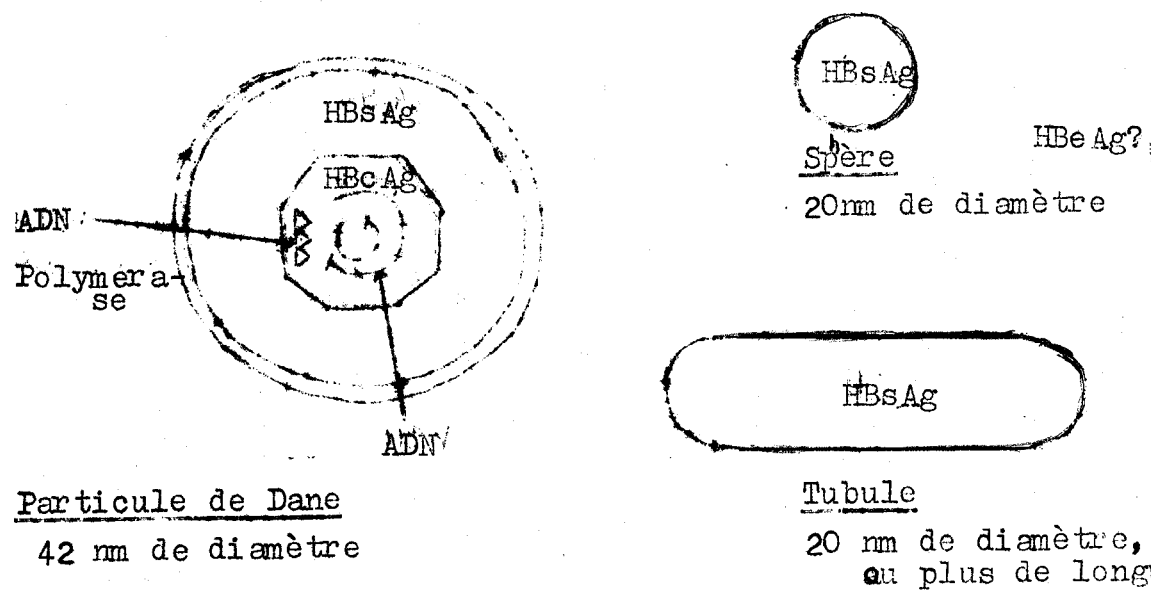


Figure 1: Diagramme de la structure des particules virales retrouvées dans le serum HBsAg positif.

Le virus de l'hépatite B est résistant à la chaleur (4 heures à 60°C en serum albumine), à l'action de l'ether, de l'alcool, des antiseptiques (47). Il est inactivé par la β propiolactone en solution à 2 ou 4 pour 1000. Congelé à -20°C, il se conserve pendant plusieurs années. A la température ambiante, il se conserve au moins 1 an. Ackerman a resumé les propriétés physico-chimiques dans le tableau suivant (68).

Propriétés	Antigène HBs	Particules de Dane	Nucléocapside
Diamètre en nm	20	42	27
Densité en CsCl g/ml	1,21	1,25	1,32
Poids X 10 ⁶ daltons	3,7-4,6		4,5
Vitesse de sédimentation, S ₂₀ , W	30,8-54		110
Point isoélectrique, pH	3,9-4,9		4,1
Mobilité électrophoretique	globulines α_2 ou β		
Protéines	70%	+	+
Lipides	25%	+	-
Glucides	+		
Acides nucléiques	-		ADN bicaténaire

Tableau 1: Propriétés physicochimiques de HBV.

HBV qui est un virus enveloppé est doué de multiplication abortive. Il faut de ce fait remarquer 2 phases fondamentales dans l'infection virale (72 - 73):

- la replication complète du virus
- la synthèse d'Ag HBs qui est presque l'intégration du DNA du virus HB dans le génome de l'hépatocyte.

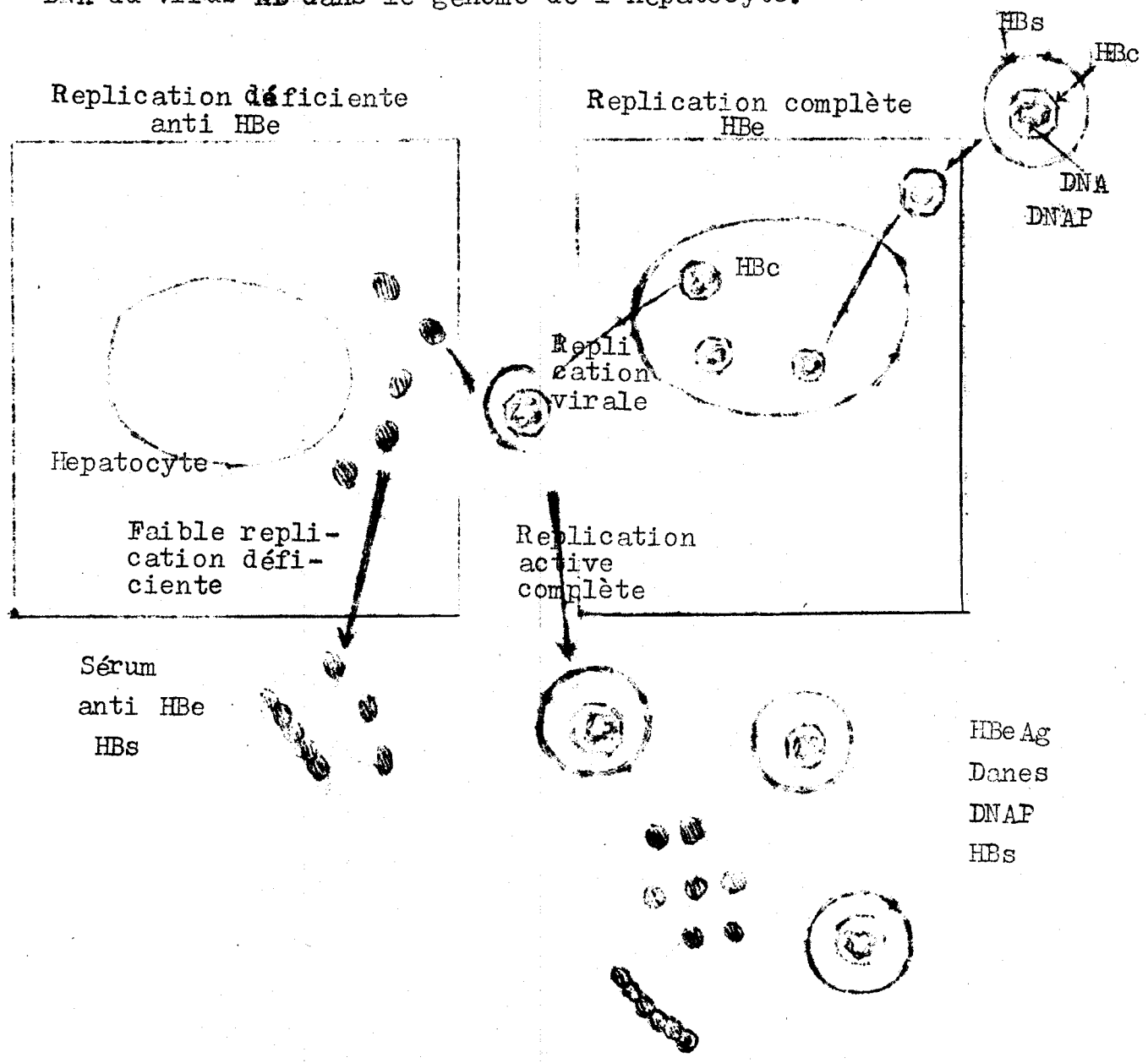


Figure 2: Les deux types de replication du virus de l'hépatite B.

Dans un organisme infecté, HBV induit plusieurs systèmes antigéniques avec les anticorps correspondants qui seront retrouvés dans le sérum et/ou dans l'hépatocyte infecté. Ce sont HBsAg/anti HBs, HBcAg/anti HBc, HBeAg/anti HBe (44 - 38 - 9).

Particule de Dane (HBV)	Présence des antigènes	
	Dans le sérum	Dans l'hépatocyte
	<p>+++</p>	<p>cytoplasme</p>
<p>HBc</p>	-	noyau
<p>HBe</p>	+	noyau
<p>+ ADN polymérase</p>	+	noyau

Figure 3: Caractéristiques ultrastructurales et antigéniques du virus de l'hépatite B. Localisation sérique et tissulaire des différents marqueurs.

2.2. Le système HBcAg/anti HBc

2.2.1 L'antigène de la nucléocapside: HBcAg

Comme son nom l'indique, HBcAg est induit par la nucléocapside. Il est retrouvé uniquement dans le noyau des hépatocytes infectés (44 - 70). Sa révélation nécessite un traitement du virion circulant avec un tensioactif (Tween 80°, Nonidet P40°) qui enlève l'enveloppe. Il a été détecté ensemble avec HBeAg par l'usage des anticorps fluorescents dans le noyau des hépatocytes infectés. On le retrouve chez la plupart des personnes HBsAg positifs en phase d'hépatite chronique active.

2.2.2 L'anti HBc

Il apparaît pendant la phase aiguë de la maladie (32). Son taux s'élève pendant cette phase et tombe pendant la convalescence. La détermination des anti HBc de la classe des IgM aide au diagnostic d'une infection aiguë (les anti HBc étant toujours de nature IgM pendant les 2 ou 3 premiers mois du début de l'infection). Il apparaît 2 à 3 semaines après l'AgHBs. Expérimentalement, il est apparu 10 à 20 semaines après l'exposition chez des sujets (Hoofnagle J.H. et al: 30).

Les anti HBc sont les seuls marqueurs sérologiques pendant la période silencieuse; entre la négativation de l'Ag HBs et l'apparition de l'anti HBs. Un titre élevé témoigne d'une replication virale en cours. Pour le diagnostic sérologique pratique, les anti HBc occupent la 2ème place après HBsAg. Ces 2 marqueurs étant les meilleurs témoins sérologiques de la replication du HBV dans l'hépatocyte.

Récemment, Alberti a découvert un nouvel Ag sur la particule Dane et suggère que son Ac correspondant joue un rôle dans la guérison de l'hépatite B par la suppression de la phase active de la replication du virus (21).

2.3 Le système delta "δ"

Un nouvel antigène: δAg, fut découvert pour la première fois en 1977 par Rizzetto par immunofluorescence nucléaire de l'hépatocyte infecté (53 - 70). Ce sont des particules dont la densité en chlorure de Cesium est $1,245\text{g/cm}^3$. C'est une protéine de 68.000 daltons qui n'est pas détectable au niveau du sérum (70). Les particules de l'Ag δ migrent entre les particules de Dane et les particules sphériques HBsAg. L'Ag δ est associé à un agent transmissible qui peut être ou une modification de la forme de HBV ou un agent de l'hépatite NANB qui est défectueux et exige la replication de HBV pour sa propre replication.

2.4 Le système HBsAg/anti HBs

2.4.1 HBsAg: autrefois appelé Ag Australie, HBsAg est l'antigène de surface de HBV. Il est formé de lipides et de carbohydrates qui sont nécessaires à l'antigénicité (28). C'est le 1er marqueurs sérologique à apparaître après une exposition. Il apparaît même avant les symptômes cliniques et les changements biochimiques de l'hépatite aiguë (28). Il a une constante de sédimentation de 110S (38). Il est hétérogène. En effet, après la détermination d'un 1er déterminant antigénique commun "a", 4 autres déterminants antigéniques furent décrits à leur tour (62). Ce sont d et y de Le Bouvier (62) et r de Bancroft et al (62). Ces découvertes permirent la préparation en France de l'anti ad et l'anti ay dans l'anti sérum de cochon d'Inde. Mais ces 5 déterminants s'avèrent insuffisants dans l'explication de certaines réactions antigéniques. C'est ce qui amena à l'observation de 3 catégories de ay et de 2 catégories de ad grâce à la subdivision en 3 codéterminants (a1, a2, a3) du déterminant antigénique commun "a". Dans les réactions expérimentales d'absorption, a1 était plus efficace que a2 qui à son tour était plus efficace que a3. Ces 5 catégories se répartissent différemment à travers le monde (62).

Catégorie 1. a1y: 13% des porteurs sains de ay Vietnamiens.

Catégorie 2. a2y: commune aux ay Gordaniens, la plupart des porteurs sains Français et la plupart des malades

Catégorie 3. a3y: 26% des porteurs sains ay surtout Africains.

Catégorie 4. a2d: commune à "ad" où a2 a la même capacité d'absorption que a2y.

Catégorie 5. a3d: très rare.

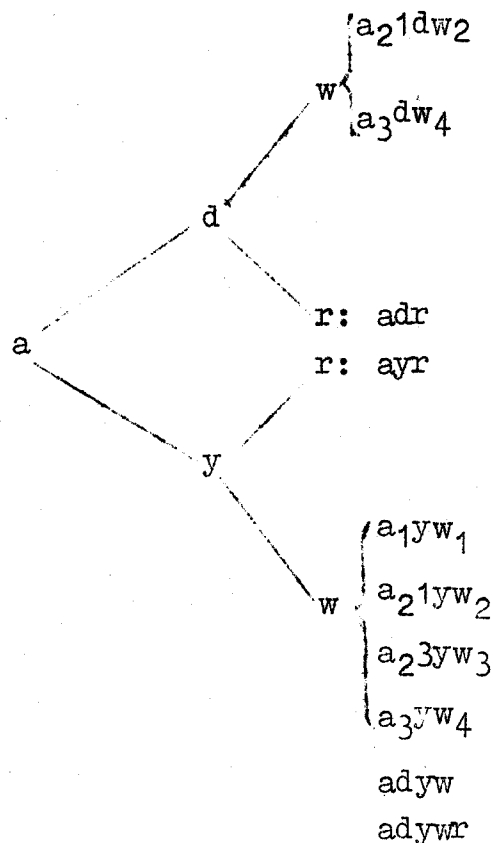


Figure 4: Les sous-types de l'AgHBs.

Comme nous l'avons vu pour les différentes catégories, les sous types de HBsAg sont inégalement répartis dans le monde (60):

- ayw prédomine en Europe de l'Est et du Sud, en Afrique du Nord et de l'Ouest, à l'Est de la Méditerranée, au Moyen Orient, en Iran, au Pakistan et en Inde.
- adw prédomine en Europe du Nord et à l'Est de l'Afrique, au Nord et au Centre de l'Amérique.
- adw et adr sont retrouvés à la fois en Nouvelle Guinée, en Indonésie, en Malaisie, en Thaïland et au Japon.
- adr se retrouve dans les autres parties du Sud-est Asiatique et en Extrême Orient.
- ayr est très rare.

Dans certaines régions, le sous type retrouvé chez les malades présentant une hépatite B aiguë diffère de celui retrouvé chez les porteurs chroniques.

Egalement, selon les études faites par Szmuness et al (65), HBsAg n'était pas régulièrement reparti suivant les donneurs de sang. Les hommes étaient plus fréquemment HBsAg positifs que les femmes, les noirs et les orientaux l'étaient également plus que la race blanche. L'OMS retient 176.000.000 comme le nombre de porteurs chroniques de HBsAg à travers le monde (60). Un traitement très tôt aux corticoïdes d'une hépatite B aiguë peut prédisposer au développement d'un portage chronique de HBsAg et/ou d'une infection chronique du foie (16). Le portage chronique étant défini par la persistance de HBsAg pendant plus de 6 mois (7). Sinon dans l'évolution favorable, HBsAg se négative en 4 à 10 semaines signant la guérison de la maladie.

2.4.2 Anti HBs: il apparaît pendant la convalescence: 1 à 4 mois après l'infection. Le taux s'élève graduellement, mais atteint très rarement le niveau élevé après l'infection primaire. Du fait du caractère d'infection de la 1ère enfance, la prévalence de l'anti HBs augmente avec l'âge (65). Cet anti HBs a un rôle protecteur contre l'hépatite B (25). Il est de nature IgG surtout. On le qualifie de marqueur de la guérison de l'hépatite virale B et de la disparition du virus.

2.5. Le système HBeAg/anti HBe

2.5.1. HBeAg: L'Ag "e" du VHB fut décrit par Magnus et Espmark en 1972 (32) comme une partie du core. C'est l'éclatement de la nucléocapside qui libère l'Ag HBe (72). Il y a des spécificités communes entre "e" et le virus NANB (58). Il apparaît avec l'Ag HBs et se négative plus tôt (dès le pic des transaminases). C'est une protéine thermolabile ayant une densité de 1,29 et une constante de sédimentation de 12S (38). L'action du sulfate d'ammonium permet le fractionnement de HBeAg en HBe1, HBe2, HBe3 (74). Par immunodiffusion ou par contre immuno électrophorèse, HBe3 migre comme une * globuline tandis que HBe1 et HBe2 seront retrouvés dans la région des * globulines. HBe3 est un mauvais marqueur car il prédispose à la chronicité (58).

Des corrélations étroites sont observées entre la détection de HBeAg dans le sérum du malade et la présence de HBcAg dans le noyau des cellules hépatiques et de HBsAg sur la membrane des hépatocytes.

Un taux élevé de HBsAg et la présence de HBeAg sont les facteurs les plus importants de la transmission verticale (64). La persistance de HBeAg après la phase aiguë de la maladie indique qu'une hépatite chronique active peut se développer. C'est donc un marqueur d'intérêt pronostique au cours des hépatites chroniques (38). On le retrouve rarement dans les sérums HBsAg positif provenant de porteurs sains. Les enfants dont les mères sont HBe Ag positives ont toutes les chances de devenir porteurs chroniques de l'infection virale (40).

2.5.2. Anti HBe: Il apparaît dans le sérum des malades dès que HBeAg n'est plus détectable.

La détermination du système HBeAg/anti HBe aide au diagnostic différentiel de l'hépatite B et fournit des indications de l'infectiosité d'un porteur chronique (32). Ceci parce qu'il apparaît que les porteurs qui sont seulement HBsAg positifs peuvent être infectieux mais à un bas niveau, tandis que le sérum qui contient à la fois HBsAg et HBeAg peut être considéré comme à haute infectiosité.

2.6. L'ADN et l'ADN polymérase

L'ADN est bicaténaire, circulaire, avec un poids moléculaire de 1,6 à $2 \cdot 10^6$ daltons et 3.600 nucléotides (38). Il y a une partie monocaténaire de 600 à 2.100 nucléotides. Cette partie semble être le site d'initiation de la replication; replication qui est effectuée grâce à l'ADN polymérase. La détection de l'ADN virale dans le sérum et dans le foie permet une étude plus directe des interactions entre virus et hépatocyte (9).

L'ADN polymérase peut être retrouvé dans le sérum de malade atteint d'hépatite B surtout pendant la phase aiguë. L'activité ADN polymérasique d'information virale qui est localisée au noyau semble associée à la nucléocapside.

Avec l'Ag HBe, l'ADN polymérase joue un rôle très déterminant dans la transmission verticale de l'hépatite B (71).

HBeAg - anti HBe chez la mère	DNA-polymérase chez la mère	Enfant HBsAg positif Nombre	Pourcentage
AgHBe positif	7	7	100%
AgHBe et anti HBe négatif	46	6	14%
Anti HBe positif	12	0	0%

Tableau 2: Importance de la présence chez la mère de l'AgHBe et de l'ADN polymérase dans la transmission mère-enfant de l'hépatite B.

2.7. Chronologie de l'apparition des différents marqueurs de HBV

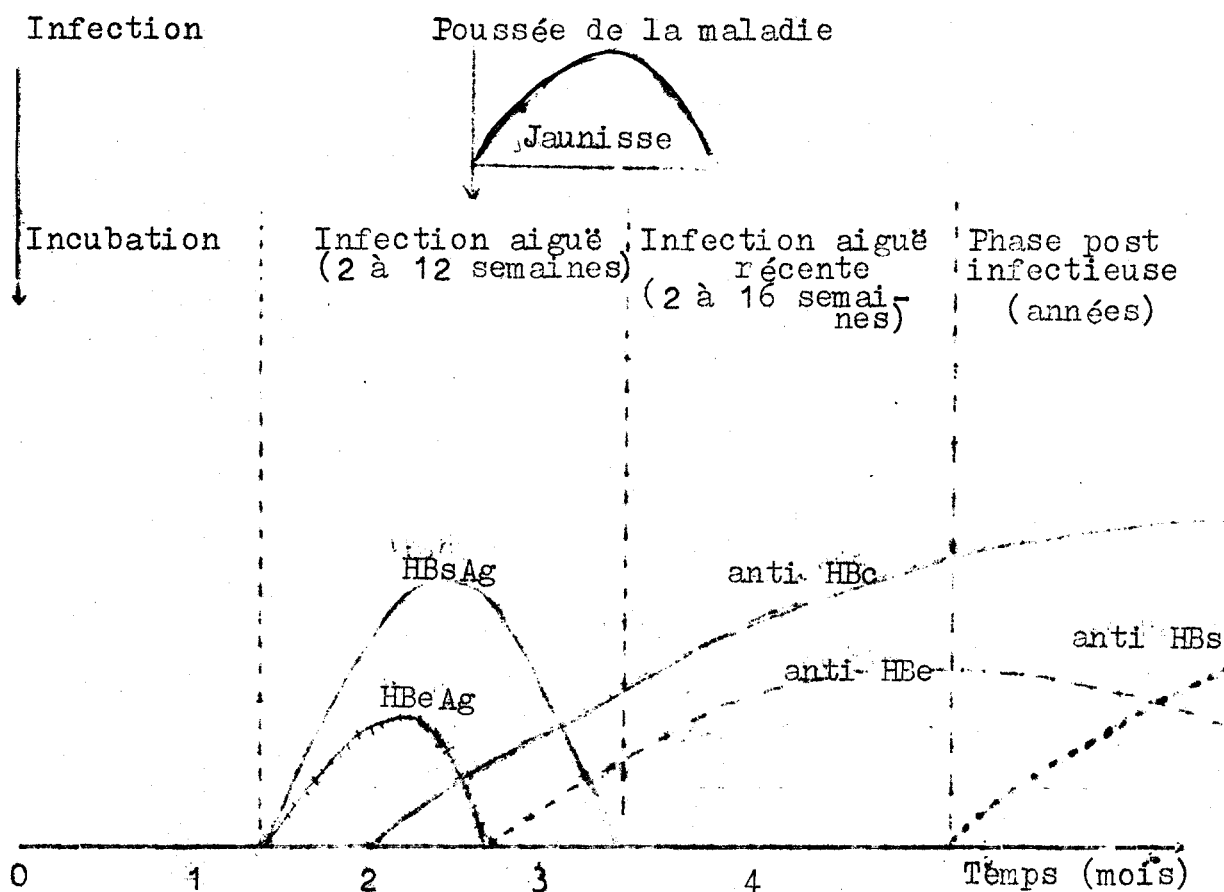


Figure 5: Représentation schématique du temps d'apparition des différents marqueurs sérologiques de HBV pendant l'hépatite B (49).

2.8. Interprétation des marqueurs sériques

2.8.1. Après une contamination par HBV, on pourra observer 3 types de réponse sérologique (63): hépatite aiguë - état de porteur chronique et réponse immune primaire.

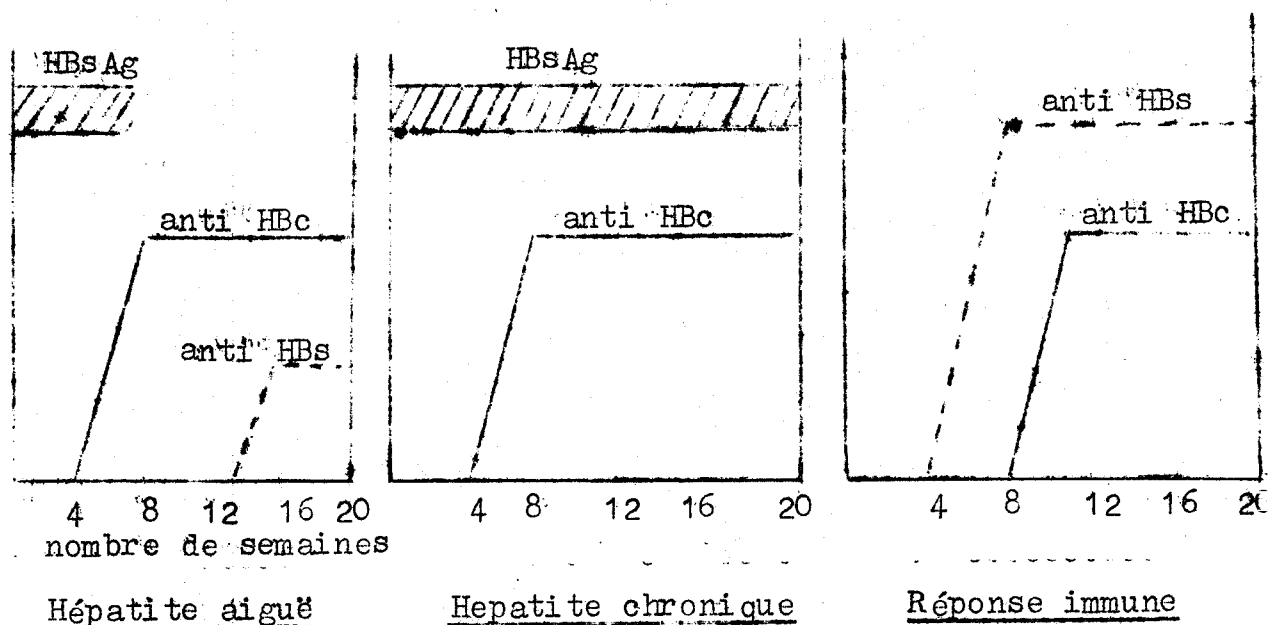


Figure 6: Evolution des marqueurs du virus B de l'hépatite au cours des trois types de réponse pouvant survenir après une contamination.

2.8.2. - Evolution favorable: si l'évolution de l'infection est normale, la première seroconversion doit être le système HBe (72). Elle sera suivie par la négativation de HBsAg puis une chute du taux de l'anti HBe. En fin de compte, la fin de l'infection est affirmée par l'apparition de l'anti HBs.

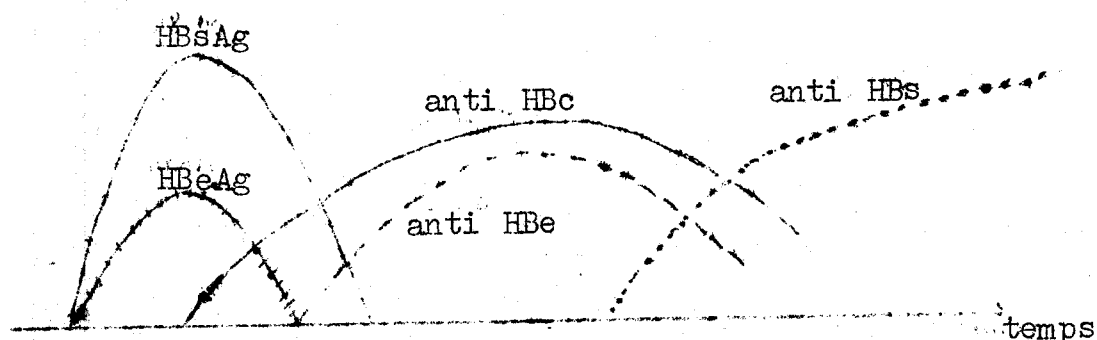


Figure 7: Evolution favorable des marqueurs sérologiques de l'hépatite B.

- Evolution défavorable: en général, la persistance de HBe Ag après une infection aiguë, et la longue persistance d'un haut titre d'anti HBe de la classe des IgM indique une hépatite chronique persistante ou une hépatite chronique active (32). Il faut donc craindre la persistance de HBsAg au delà de 3 mois et surtout si HBeAg persiste également.

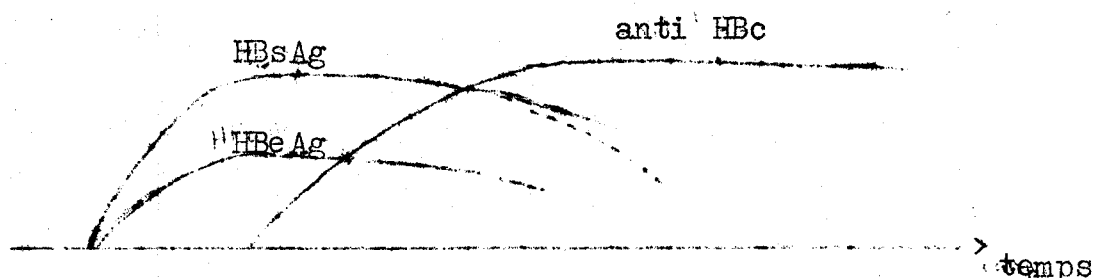


Figure 8: Evolution défavorable des marqueurs sérologiques de l'hépatite B.

Marqueurs	Evolution favorable	Evolution défavorable
HBsAg	Persistance moins de 1 an	Persistance à un taux élevé au delà de 1 an
Anti HBs	Apparition deux à trois mois après la négativation de HBsAg	Absence
Anti HBe	Diminution progressive	Maintien à un taux élevé
HBeAg	Négativation	Persistance
Anti HBe	Apparition dès la négativation de "e"	Absence
Particules de Dane	Disparition progressive	Présence

Tableau 3: Evolution des marqueurs sérologiques de l'hépatite B.

2.8.3. On définit 2 stades de porteur chronique (9):

- un 1er stade caractérisé par l'ADN viral libre dans le foie avec l'ADN viral et HBeAg dans le sérum, l'ADN viral intégré est aussi présent chez certains malades.

- un 2ème stade caractérisé par la présence seule des successions de l'ADN viral intégré dans le foie: l'ADN viral et HBeAg ne sont pas présents dans le sérum.

2.8.4. Toutes ces propriétés permirent à Sherlock S. (58) de faire la classification suivante:

- HBe₃ et anti HBc sont des mauvais marqueurs et
- anti HBs, anti HBe, anti Dane (Alberti) sont les bons marqueurs.

Le tableau suivant permet de déterminer le niveau de gravité de la maladie chez un sujet:

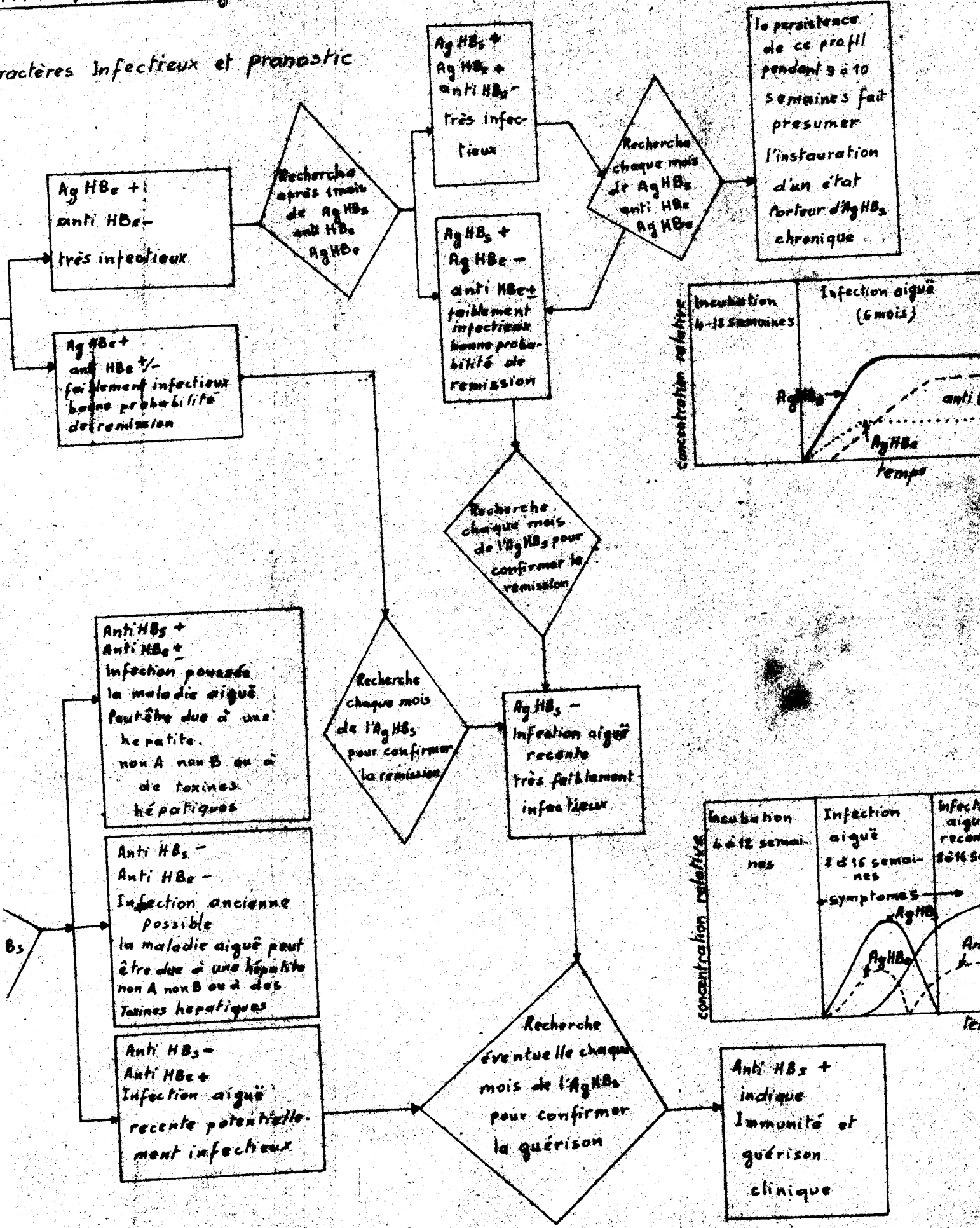
HBsAg	HBeAg	anti HBe	anti HBc	anti HBs	Interprétation
+	+	-	-	-	Début de l'hépatite B
+	+	-	+	-	Hépatite aiguë (à partir 3 ^e , 4 ^e semaines) ou porteur chronique (réplication active du virus)
+	-	+	+	-	Hépatite aiguë (fin évolution) ou porteur chronique généralement asymptomatique
-	-	+	+	-	Convalescence immédiate HB ou porteur chronique (AgHBs infra détectable) ou sujet immunisé (anti HBs infra détectable)
-	-	+	+	+	Antécédents récents HB
-	-	-	+	+	Antécédents plus lointains
-	-	-	-	+	Antécédents très lointains ou immunisation par le vaccin

} sujets immunisés contre VHB

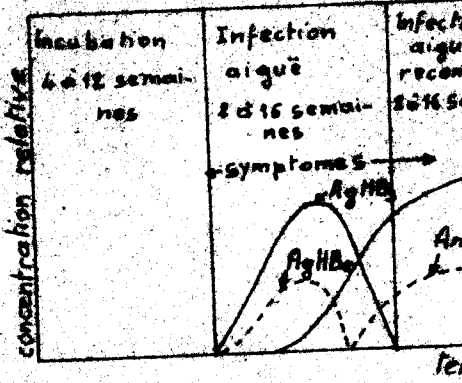
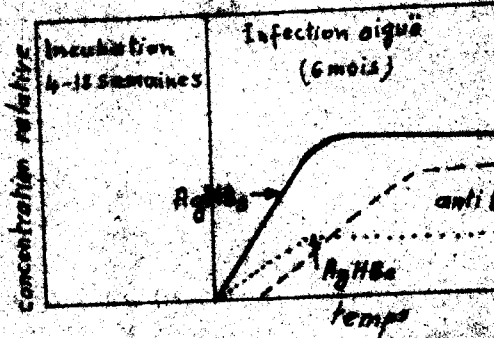
Tableau 4: Interprétation des marqueurs sériques du virus HB (63).

Maladie virale aiguë

Caractères infectieux et pronostic



La persistance de ce profil pendant 9 à 10 semaines fait presumer l'instauration d'un état porteur d'Ag HBs chronique



Anti HBs +
Anti HBc +
Infection possible la maladie aiguë peut-être due à une hépatite non A non B ou à des toxines hépatiques

Anti HBs -
Anti HBc -
Infection ancienne possible la maladie aiguë peut être due à une hépatite non A non B ou à des toxines hépatiques

Anti HBs -
Anti HBc +
Infection aiguë récente potentiellement infectieux

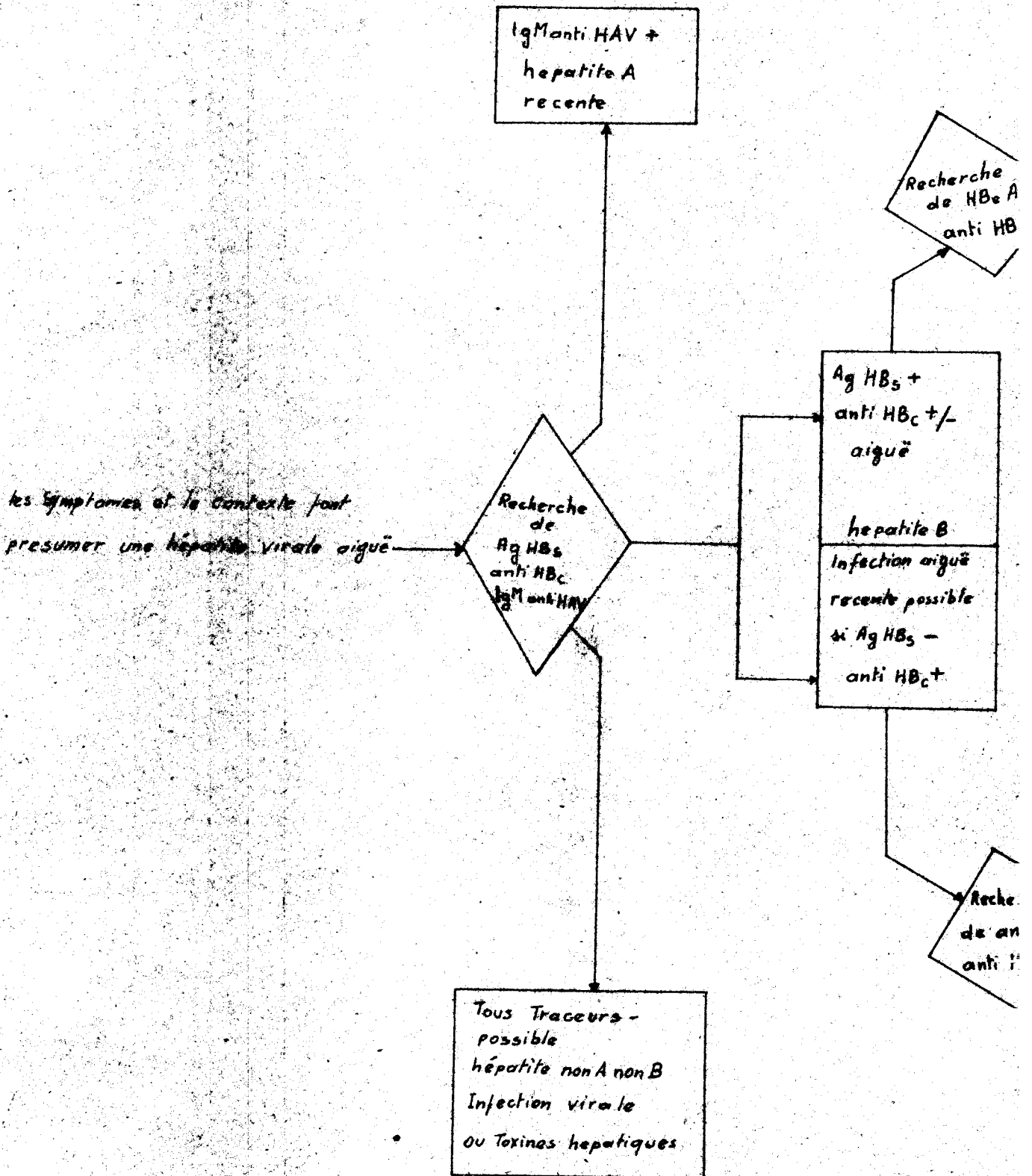
Ag HBs +
Ag HBc +
anti HBc -
très infectieux

Ag HBs +
Ag HBc -
anti HBc +/-
faiblement infectieux
bonne probabilité de rémission

Ag HBs -
Infection aiguë récente
très faiblement infectieux

Anti HBs +
indique l'immunité et guérison clinique

Diagnostic différentiel



III

IMMUNOLOGIE DE L'HEPATITE B

3.1. Le virus de l'hépatite B n'est pas directement cytopathique chez l'homme (69). L'infection déclenche simultanément des réponses immunitaires de type humoral et de type cellulaire (21). On retrouvera donc ces 5 formes de réactions immunologiques (26):

- une réaction anaphylactique
- une réaction cytotoxique immune
- une réaction du complexe immun
- une immunité à médiation cellulaire
- une toxicité cellulaire anticorps dépendante.

C'est surtout la réponse immunitaire cellulaire de l'hôte dirigée contre le virus codé ou les antigènes induits par le virus placé sur la membrane qui aboutit à la lyse de la cellule infectée. HBsAg a été retrouvé à la surface des hépatocytes pendant la phase prodromique de l'hépatite aiguë et chez le porteur ayant une fonction normale du foie. Il est rarement ^{retrouvé} chez les malades qui ont une hépatite aiguë ou chronique active (69). La concentration sérique des complexes immuns HBsAg/anti HBs est la plus forte dans l'hépatite chronique et est responsable des lésions.

Des complexes immuns en excès d'Ag sont responsables des prodromes de la maladie et de certains syndromes extra hépatites (vasculites, glomérulites).

L'immunité cellulaire spécifique de HBsAg qui est présente chez tous les malades récemment guéris d'une hépatite B est détectée in vitro sur les lymphocytes circulants suivant un certain nombre de tests (21):

- transformation lymphoblastique en présence de HBsAg purifié
- inhibition de la migration des macrophages
- inhibition de la migration leucocytaire
- test de cytotoxicité.

Cette réponse immune à médiation cellulaire, à HBsAg situé sur la membrane; qui est responsable de l'élimination de HBsAg et de la genèse des lésions hépatiques dans les hépatites aiguë et chronique active est presque toujours absente chez les porteurs asymptomatiques de HBsAg et dans la cirrhose post hépatique (21).

Son absence permet à l'Ag viral situé sur les cellules de persister dans l'hépatite chronique persistante (C.P.H: chronic persistent hepatitis) et chez le porteur sain (69). La lyse des hépatocytes infectés par les cellules T dépend de l'association des Ag viraux avec le produit du gène Ia faisant partie du complexe majeur d'histocompatibilité (M.H.C: major histocompatibility complex). Du fait que une partie des protéines de HBsAg provient de l'hôte, les différentes réponses immunitaires spécifiques de HBsAg sont faibles.

3.2 Les Ag viraux ne sont pas les seuls à induire une réponse immunitaire importante dans la pathogénèse des hépatites (21). A l'école de Meyer ~~zum~~ Büschenfelde l'on a démontré le rôle de cible de l'agression immunitaire de certains antigènes membranaires (21). Ces antigènes sont: le LM Ag (liver cell membrane antigen) pour l'immunopathogénèse des atteintes hépatiques "auto immunes" et le L S P (liver specific protein) pour l'immunopathogénèse des hépatites aiguës et chronique, qu'elles soient HBs négatives ou positives.

Des anticorps anti nucléaire, anti mitochondrie, anti muscle lisse et anti IgG dont le rôle pathogénique reste à démontrer sont découverts dans le sérum au cas où aucun marqueur de l'infection B n'est retrouvé.

IV

SUJETS ETUDIÉS ET MÉTHODES

4.1. Sujets étudiés

Une première étude a porté sur 1253 jeunes femmes âgées de 14 ans à 30 ans vivant à Bamako et banlieue. L'analyse a consisté en la recherche de l'antigène HBs par la technique ELISA dans les sérums de ces sujets. Les prélèvements ont été faits dans les laboratoires suivants: le laboratoire d'analyse de Bamako Coura (ancien laboratoire central), le laboratoire de l'hippodrome (ancien INBH: institut national de biologie humaine), et surtout au Centre National de transfusion sanguine de Tomikorobougou. Les jeunes femmes s'y rendaient pour réaliser un bilan systématique (prénatal ou prénuptial). Les prélèvements ont été faits durant l'année universitaire 1981-1982.

Puis une deuxième étude a porté sur 350 sérums des 1253 sérums étudiés précédemment. Ces 350 sérums ont été étudiés simultanément par l'ELISA et l'EID afin de comparer les performances de ces deux techniques.

Nous avons également reçu 94 sérums de malades hospitalisés pour cancer primitif du foie (C.P.F.) dans le service du professeur Duflo B. au Point G. Cette population comptait 15 femmes (15,96%) et 79 hommes (84,04%). Ces sérums ont été étudiés par la technique ELISA.

4.1.1. Age

4.1.1.1 Dans la première étude, les jeunes femmes étaient âgées de 14 à 30 ans. Elles sont inégalement réparties suivant l'âge (le nombre variant de 5 à 198).

Age	Nombre total	Pourcentage dans la population
30 ans	123	9,82%
29 ans	14	1,12%
28 ans	57	4,55%
27 ans	45	3,59%
26 ans	49	3,91%
25 ans	125	9,98%
24 ans	88	7,02%
23 ans	78	6,22%
22 ans	95	7,58%
21 ans	98	7,82%
20 ans	162	12,93%
19 ans	198	15,80%
18 ans	50	3,99%
17 ans	34	2,71%
16 ans	22	1,76%
15 ans	10	0,80%
14 ans	5	0,40%
Total	1253	100%

Tableau 5: Répartition des 1253 sujets étudiés suivant l'âge.

4.1.1.2. Dans la deuxième étude, les jeunes femmes étaient âgées de 19 à 25 ans. Cette étude a porté sur 50 sérums de chaque tranche d'âge soit 14,28% de la population totale, dans le but de comparer la technique ELISA et l'Electroimmunodiffusion.

Age	Nombre total	Pourcentage dans la population
25 ans	50	14,28%
24 ans	50	14,28%
23 ans	50	14,28%
22 ans	50	14,28%
21 ans	50	14,28%
20 ans	50	14,28%
19 ans	50	14,28%
Total	350	99,96%

Tableau 6: Répartition des 350 sujets étudiés suivant l'âge.

4.1.2 Ethnie

Parmi les sujets étudiés (dans les 2 études), figure la totalité des différentes ethnies présentes à Bamako avec une prédominance des Bambaras suivis des Malinkés, des Peulhs et des Sarakolés. Certaines ethnies ne sont représentées que par un seul sujet. Ce phénomène indépendant de notre volonté est en rapport avec la faible représentativité de ces ethnies dans la population Bamakoise.

Ethnie	Nombre total	Pourcentage dans la population
Bambara	482	38,47%
Malinké	225	17,96%
Peulh	202	16,12%
Sarakolé	128	10,21%
Sonraï	44	3,51%
Sénoufo	40	3,19%
Kassonké	29	2,31%
Dogon	22	1,76%
Minianka	20	1,59%
Bobo	11	0,88%
Wolof	10	0,80%
Bozo	10	0,80%
Maure	11	0,88%
Mossi	4	0,32%
Tamacheck	4	0,32%
Kissi	3	0,24%
Samogo	2	0,16%
Metisse	1	0,08%
Dafing	1	0,08%
Sosso	1	0,08%
Toma	1	0,08%
Arabe	1	0,08%
Haoussa	1	0,08%
Total	1253	100%

Tableau 7: Répartition des 1253 sujets étudiés suivant l'ethnie.

Ethnie	Nombre total	Pourcentage dans la population
Bambara	153	43,71%
Malinké	47	13,43%
Peulh	57	16,28%
Sarakolé	35	10%
Sonraï	19	5,43%
Sénoufo	8	2,28%
Kassonké	7	2%
Dogon	6	1,71%
Minianka	4	1,14%
Maure	4	1,14%
Bobo	2	0,57%
Wolof	2	0,57%
Bozo	1	0,29%
Mossi	1	0,29%
Samogo	1	0,29%
Métisse	1	0,29%
Dafing	1	0,29%
Sosso	1	0,29%
Total	350	100%

Tableau 8: Répartition des 350 sujets étudiés suivant l'ethnie.

4.2 Méthodes utilisés

4.2.1 Electro-immuno-diffusion: EID

4.2.1.1 Principe

Suivant leur nature chimique, les globulines seront chargées positivement ou négativement. Dans un champ électrique, elles seront donc entraînées vers la cathode (pour celles portant une charge positive) ou vers l'anode (pour celles portant une charge négative) en milieu tampon. Dans notre cas précis, l'antigène sera entraîné vers l'anode tandis que l'anticorps sera entraîné vers la cathode. L'Ag et l'Ac sont placés respectivement dans des puits cathodiques et anodiques, de telle sorte qu'ils migrent l'un vers l'autre; formant un arc de précipitation à leur intersection. C'est cet arc qui témoigne de la positivité de la réaction.

4.2.1.2 Réactifs

- tampon véronal - tris pH 9,2
- Immunsérum (polyvalent ou monospécifique)
- Eau physiologique (solution de NaCl à 9°/°°)

4.2.1.3 Technique

Après sa sortie du sachet polythène, le film est rehydraté verticalement dans un bac porte films contenant de l'eau distillée pendant au moins une heure. Ensuite on immerge le film dans 150ml de tampon véronal-tris pendant 15 minutes. Après, l'excès de tampon est enlevé des puits à l'aide du bout d'un papier filtre.

Dans un premier puits cathodique, on dispose 10 μ l de la solution d'HBsAg; et tous les autres contiendront les différents sérums à analyser. Dans les puits anioniques, on dépose 10 μ l d'anticorps monospécifique. Donc, la première paire de puits constituera le témoin. Le film est ensuite posé sur le support rigide. L'ensemble est placé sur le portoir 8,5cm (puits côté cathodique). Il faut appliquer des ponts de papier filtre (papier épais) entre le tampon et le film, en recouvrant le gel sur 1cm de chaque côté.

Enfin, on le soumet au champ électrique de 150V. La migration est complète au bout de 35 minutes, temps au bout duquel, on lave le film dans l'eau physiologique pour éliminer les protéines non précipitées. Puis on rince à l'eau distillée et on passe à la lecture.

4.2.1.4 Avantages de cette méthode

L'électro-immuno-diffusion, une technique de première génération, est une méthode très simple. La lecture ne demande pas de dispositif spécial. Cette méthode permet également un gain très important de temps. Elle est très spécifique et n'est pas trop chère. Elle est à la portée des laboratoires même les moins équipés.

4.2.1.5 Inconvénients de la méthode

L'électro-immuno-diffusion, malgré tous les avantages cités plus haut, est de loin moins sensible que d'autres méthodes employées dans les laboratoires très équipés et que l'on appelle technique de 3^e génération (ELISA: méthode immuno enzymatique; RIA: radio immuno assay).

4.2.2 Enzyme linked immuno sorbent assay: ELISA

L'ELISA est une technique immuno-enzymatique dont l'application fut démontrée par Duermeyer pour l'hépatite A et Farr pour HBsAg (10). Puis des études plus poussées permirent à Gerlich et à Locarnini la recherche des IgM respectivement pour HBV et HAV (10). Cette technique dépend de 2 propriétés fondamentales (75):

- l'antigène ou l'anticorps peut être attaché à une phase solide tout en gardant l'activité immunologique.
- soit l'antigène soit l'anticorps peut être lié à une enzyme et le complexe formé retient à la fois l'activité immunologique et l'activité enzymatique.

Les anticorps et beaucoup d'antigènes peuvent être volontiers attachés à des disques de papier ou à des surfaces en plastique telle que le polyvinyl ou le polystyrène, soit d'une façon chimique, soit par adsorption passive, tout en retenant leurs activités.

Les anticorps et les antigènes ont été liés à une variété d'enzymes comprenant la peroxydase, la glucose oxydase, la beta galactosidase et la phosphatase alcaline.

En pratique, on utilise la double réaction d'anticorps en sandwich pour la détection de l'antigène et la méthode indirecte pour la détection des anticorps.

Les sources typiques des antisérums sont l'antisérum de lapin aux IgG humaines, l'antisérum de mouton aux IgG humaines et l'antisérum de chèvre aux IgM humaines (75).

4.2.2.1 Principe

L'ELISA est une méthode enzymatique basée sur la technique "sandwich". Des Ac sont au préalable fixés sur la plaque. Les Ag HBs contenus dans le sérum (si positif) se lient aux Ac après addition du sérum. Après lavage, une deuxième réaction consistera en la liaison des Ac anti HBs conjugués à l'enzyme (peroxydase) aux déterminants antigéniques encore libres. Un dernier lavage servira à éliminer l'excès des Ac. Enfin la réaction est arrêtée par l'addition d'acide sulfurique dilué. Les réactifs sont présentés sous forme de coffrets. Nous avons utilisé 2 types:

- le type Behring appelé "Enzygnost HBsAg micro"
- le type Organon appelé "Système microelisa Hepanostika HBsAg".

4.2.2.2 Type Berhing

Composition

Le coffret enzygnost HBsAg micro contient

- plaque anti HBsAg recouverte d'Ac de mouton (96 puits).
- conjugué anti HBsAg/POD: anti HBsAg, conjugué à la peroxydase (POD) (de lapin).
- tampon de conjugué: milieu de dilution pour l'anti HBsAg/POD conjugué
- sérum de contrôle HBsAg (humain), positif
- sérum de contrôle HBsAg (humain), négatif

- solution de lavage POD (concentré): solution tampon phosphate additionnée de tween.
- tampon substrat POD: eau oxygenée (0,3g/l) dans une solution tampon citrate phosphate.
- chromogène POD (ortho-phénylènediamine dihydrochlorure, OPD).
- solution d'arrêt POD (acide sulfurique 0,5N).
- bande adhésive.

Matériel

Bain marie: +40°C

Trompe à eau pour le lavage

Pipette pasteur

Pipette Eppendorf à embout: 100 µl, 300 µl

Réalisation du test

Il faut d'abord ramener les réactifs à une température entre +18°C et +25°C.

Avant le début du test on prépare:

- la solution de lavage, par dilution de 15ml de solution concentrée de lavage avec 285ml d'eau distillée (compléter 15ml à 300ml avec l'eau distillée).
- l'emploi du conjugué par addition de 10ml de tampon pour conjugué à un flacon de conjugué anti HBsAg/POD et mélanger en agitant légèrement; éviter la formation d'une quantité trop importante de mousse.

Puis on débute le test proprement dit en déposant dans les 2 premiers puits 100 µl de sérum de contrôle négatif, 100 µl de sérum de contrôle positif dans le troisième puits et 100 µl de sérum de contrôle positif dilué au 1/10^e dans le 4^e puits (la dilution du contrôle positif se faisant avec le contrôle négatif). Ces 4 puits constitueront les témoins. Dans les 92 autres puits on dépose 100 µl de chaque échantillon.

Recouvrir de bande adhésive et laisser incuber 16 à 24 heures entre +18°C et +25°C.

Retirer la bande adhésive, aspirer tous les sérums et ajouter 0,3ml de solution de lavage.

Aspirer de nouveau; et répéter le lavage une fois.

Déposer 100 μ l de dilution d'emploi du conjugué dans chaque puits en veillant à ne pas mouiller le bord des puits.

Récouvrir avec une nouvelle bande adhésive et laisser incuber pendant une heure à +40°C au bain marie. Peu avant la fin du temps d'incubation, verser 10ml de solution tampon/substrat dans un flacon de chromogène, dissoudre en secouant et conserver à l'abri de la lumière (dans le coin sombre d'une armoire).

Rétirer la bande adhésive, vider tous les puits par aspiration et laver quatre fois comme précédemment.

Déposer 100 μ l de la solution chromogène tampon/substrat obtenue précédemment.

Récouvrir avec une nouvelle bande adhésive et laisser incuber 30 minutes entre +18°C et +25°C en protégeant de toute lumière forte.

Rétirer la bande adhésive, ajouter 100 μ l de solution d'arrêt dans chaque puits.

Procéder à la lecture dans l'heure qui suit en plaçant la plaque au dessus d'une surface blanche. Les contrôles positifs présentent une coloration orange-jaune, alors que les contrôles négatifs sont presque incolores. Les échantillons qui ont une intensité de couleur comparable à celle du contrôle négatif sont HBsAg négatifs, tandis que ceux dont la coloration est plus intense que le contrôle négatif sont HBsAg positifs.

La lecture pourrait également se faire au photomètre.

4.2.2.3 Type organon

Composition

- Support contenant 8 rangées de microelisa avec 12 puits recouverts d'anti HBs de mouton (96 puits au total).
- Ampoule contenant le conjugué: HRP lié aux anti HBs de mouton.
- Flacon contenant 11,5ml de solvant pour conjugué.
- Bouteille contenant 100ml de solution tampon tris concentrée.
- Flacon contenant 8 comprimés d'urée peroxide.
- Flacon contenant 20 comprimés d'ortho-phénylènediamine hydrochlorure.
- Une boîte dans laquelle on retrouve un flacon contenant 1,8ml de contrôle HBsAg (humain) négatif et un flacon contenant 1,8ml de contrôle HBsAg (humain) positif.
- Bande adhésive.

Ici la solution d'arrêt qui est l'acide sulfurique 2mol/l n'accompagne pas le kit. Elle doit être préparée par l'utilisateur.

Matériel et réalisation du test

Ils sont les mêmes que dans le type Behring. Sauf que dans le type Organon toutes les séances de lavage sont à répéter 4 fois. Donc le type Organon prend plus de temps que le type Berhing.

4.2.2.4 Avantages des tests ELISA

Test de 3ème génération, l'ELISA est très sensible (comparable à la RIA: radio immuno assay). Le seuil de dépistage est inférieur à 40 U/ml (sous type ad) et à 1,5 U/ml (sous type ay). On a donc une très précieuse économie d'antigènes (quelques nanogrammes d'antigènes solubles suffisent). Vu le nombre de puits, plusieurs sérums pourront être analysés simultanément; ce qui fait que ce test sera plus utile dans les enquêtes épidémiologiques. L'existence d'un test de confirmation permet l'éviction de fausse réaction. Enfin l'ELISA est un test très simple doué d'une haute spécificité. La très grande rapidité de la lecture peut permettre une automatisation de cette dernière.

4.2.2.5 Inconvénients des tests ELISA

L'ELISA est un test très onéreux et ne sera par conséquent applicable que par les laboratoires équipés. Il demande une très grande habilité dans les manipulations. Tout cela est aggravé par le pouvoir cancérigène du conjugué. Egalement, l'inconstance de la fixation de l'antigène sur le polystyrène est parfois un problème D'où la nécessité de disposer de bons témoins.

V

RESULTATS

5.1 Résultats globaux

Par l'ELISA, sur les 1253 sérums analysés, 198 sont HBsAg positifs. Ce qui fait une prévalence du portage de HBsAg de 15,79%. La concentration en HBsAg est dans tous les cas inférieure ou égale à celle du contrôle positif.

Sur les 350 sérums étudiés simultanément par l'ELISA et l'EID en vue de comparer les performances de ces deux techniques, 51 sont HBsAg positifs à l'ELISA soit 14,57% et 25 sont HBsAg positifs à l'EID soit 7,69%.

Quant aux 94 sérums venus du Point G, 60 sont HBsAg positifs soit 63,82%. Ici nous remarquons que la prévalence du portage de HBsAg est plus élevée chez les hommes: 52 sur 79 (65,82%), que chez les femmes: 8 sur 15 (53,33%).

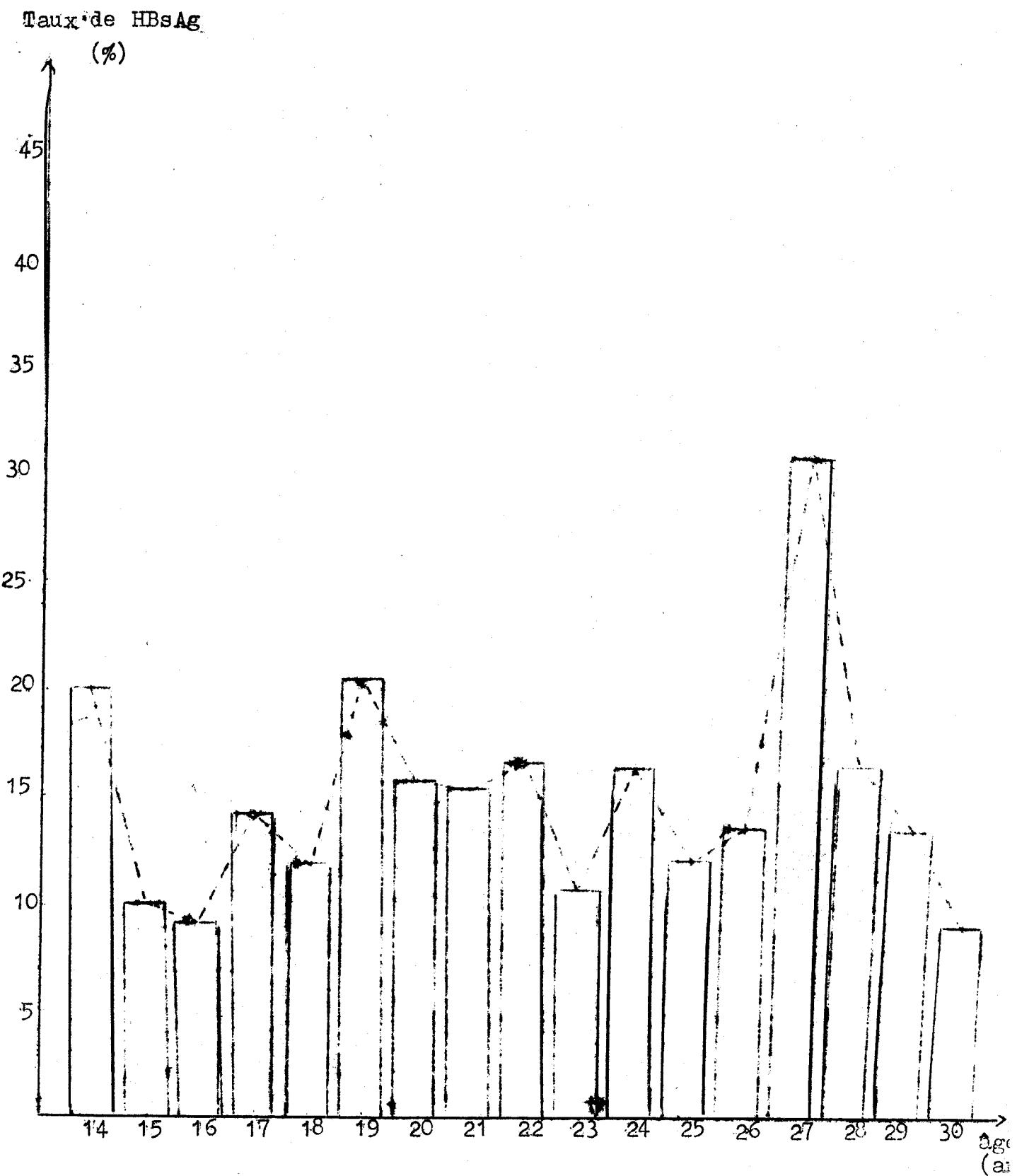
L'envoi de quelques sérums à Paris et à Lausanne (Suisse) a permis la détection d'un certain nombre de marqueurs du virus de l'hépatite B. Il ressort de ces analyses que 11,76% des sérums sont HBsAg+ et HBeAg+; et 28,88% sont HBsAg+ et DNA+.

5.2 L'Age

D'une façon générale, la prévalence du portage de HBsAg est très élevée et dépasse le taux moyen fixé pour l'Afrique Occidentale (63) dans toutes les classes d'âge de notre échantillon. Néanmoins l'impossibilité d'une interprétation très claire du polygone de fréquence obtenu ne nous empêche pas de noter la très grande élévation de la prévalence du portage de HBsAg dans les classes d'âge suivantes: 14 ans, 19 ans et 27 ans. Les taux sont respectivement: 20 - 20,20 et 33,33%.

Age	HBsAg+	HBsAg-	Prévalence du portage de HBsAg
30 ans	11	112	8,94%
29 ans	2	12	14,28%
28 ans	10	47	17,54%
27 ans	15	30	33,33%
26 ans	7	42	14,28%
25 ans	15	110	12%
24 ans	15	73	17,04%
23 ans	8	70	11,42%
22 ans	17	78	17,89%
21 ans	16	82	16,32%
20 ans	27	135	16,66%
19 ans	40	158	20,20%
18 ans	6	44	12%
17 ans	5	29	14,70%
16 ans	2	20	9,09%
15 ans	1	9	10%
14 ans	1	4	20%
Total	198	1055	15,79%

Tableau 9: Prévalence du portage de HBsAg chez 1253 femmes en fonction de l'âge. (ELISA)



□ : histogramme

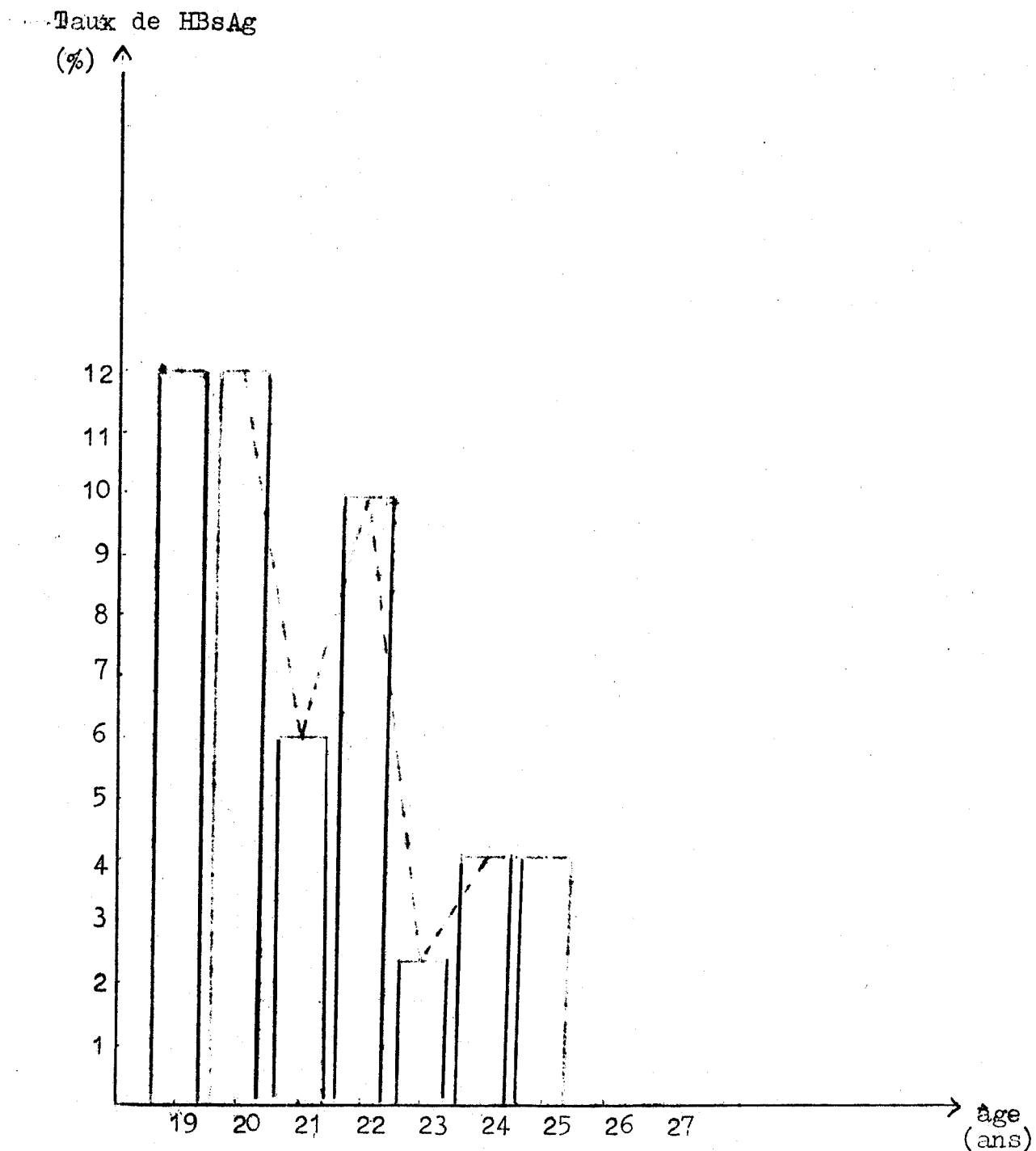
----- : polygone de fréquence

Figure 9: Représentation graphique des résultats suivant l'âge (EIIISA).

Dans la 2ème étude, les résultats suivent logiquement les mêmes évolutions que dans la 1ère étude mais à des taux relativement plus bas. Ainsi le polygone de fréquence est à peu près superposable à la fraction correspondante du précédent.

Age	HBsAg+	HBsAg-	Prévalence du portage de HBsAg
25 ans	2	48	4,16%
24 ans	2	48	4,16%
23 ans	1	49	2,04%
22 ans	5	45	10%
21 ans	3	47	6%
20 ans	6	44	12%
19 ans	6	44	12%
Total	25	325	7,69%

Tableau 10: Prévalence du portage de HBsAg chez les 350 femmes en fonction de l'âge (EID).



▭ : histogramme

- - - : polygone de fréquence

Figure 10: Représentation graphique des résultats suivant l'âge (EID).

5.3 Ethnie

Dans nos 2 études, la prévalence du portage HBsAg est très différente suivant les ethnies. On peut mentionner ici une fréquence très forte dans certaines ethnies telles que les Miniankas, les Kissis (Guinée), les Tamacheck, les Dogons, les Sonraïs, etc.... Mais cela doit faire l'objet d'une attention particulière du fait de la faible représentativité de certaines ethnies dans notre échantillonnage.

Ethnie	HBsAg+	HBsAg-	Prévalence du portage de HBsAg
Bambara	77	405	19,01%
Malinké	27	198	12%
Peulh	29	173	16,76%
Sarakolé	24	104	18,75%
Sonraï	9	35	20,45%
Sénoufo	7	33	17,50%
Kassonké	5	27	17,24%
Dogon	5	17	22,72%
Minianka	7	13	35%
Maure	1	10	9,09%
Bobo	2	9	18,18%
Wolof	1	9	10%
Bozo	1	9	10%
Mossi	0	4	0%
Tamacheck	1	3	25%
Kissi	1	2	33,33%
Samogo	0	2	0%
Métisse	0	1	0%
Dafing	0	1	0%
Sosso	0	1	0%
Toma	0	1	0%
Arabe	0	1	0%
Total	198	1055	15,79%

Tableau 11: Prévalence du portage de HBsAg chez les 1253 femmes en fonction de l'ethnie (ELISA).

Ethnie	HBsAg+	HBsAg-	Prévalence du portage de HBsAg
Bambara	13	140	9,28%
Malinké	4	43	8,51%
Peulh	3	54	5,26%
Sarakolé	2	33	6,06%
Sonraï	1	18	5,55%
Sénoufo	1	7	12,50%
Kassonké	0	7	0%
Dogon	0	6	0%
Minianka	0	4	0%
Maure	1	3	25%
Bobo	0	2	0%
Wolof	0	2	0%
Bozo	0	1	0%
Mossi	0	1	0%
Samogo	0	1	0%
Métisse	0	1	0%
Dafing	0	1	0%
Sosso	0	1	0%
Total	25	325	7,69%

Tableau 12: Prévalence du portage de HBsAg chez les 350 femmes en fonction de l'ethnie (EID).

5.4 Sexe

Ce point ne concerne que les 94 sérums du point G; les autres étant uniquement des sérums de jeunes femmes.

Sexe	Nombre total	Pourcentage de la population	HBsAg+	HBsAg-	Prévalence de HBsAg
Masculin	79	84,04%	52	27	65,82%
Féminin	15	15,96%	8	7	53,33%
Total	94	100%	60	34	63,82%

Tableau 13: Répartition et prévalence de HBsAg chez les malades en fonction du sexe.

La prévalence est plus élevée chez les hommes. En considérant les femmes, la prévalence dépasse de très loin celle trouvée chez les jeunes femmes saines (15,64%). Ceci met en évidence une fois de plus le rapport entre le cancer primitif du foie et le portage de HBsAg.

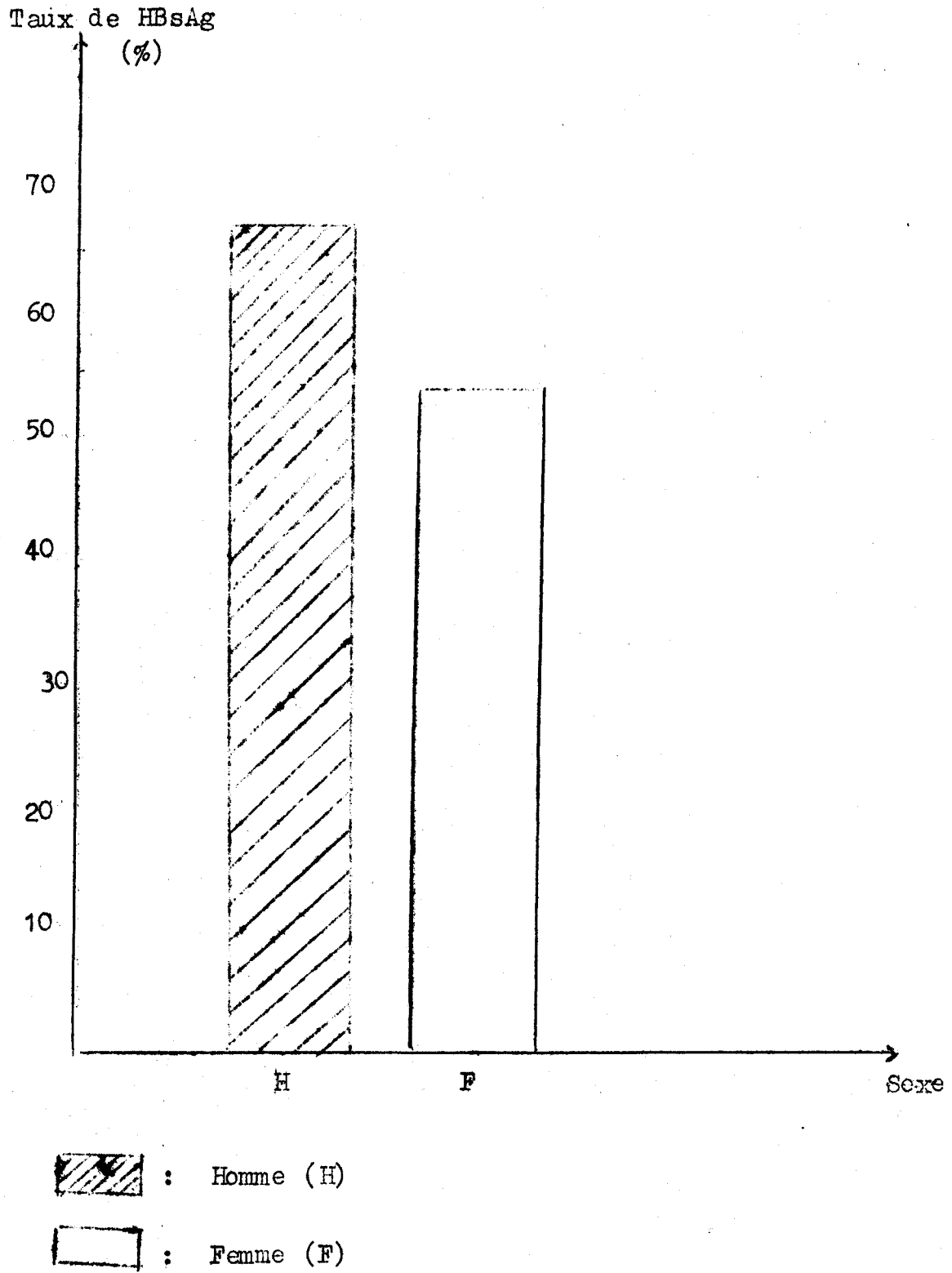


Figure 11: Histogramme des sexes.

5.5 Résultats des analyses effectuées à Lausanne (Suisse)

Sur les 33 sérums envoyés dans le service du Professeur P. Fre au Centre hospitalo-universitaire Vaudois, dont 25 étaient HBsAg+ et 8 HBsAg-, les marqueurs suivants: HBeAg, anti HBe, anti HBe et anti HBs du virus de l'hépatite B; ont été recherchés. Les résultats obtenus révèlent que le taux de portage dangereux n'est pas négligeable. En effet 11,76% des jeunes femmes portent en plus de l'antigène HBs, l'antigène HBe. Ceci est également un facteur très important dans la transmission verticale de l'hépatite virale B (64). En effet la présence de l'antigène HBe est le témoin de la replication virale chez les femmes. Il en résulte qu'elles sont à la fois transmetteuses du virus et sujettes à une hépatite chronique active.

	Nombre de sérums testés	Pourcentage	Observations
Nombre de sérums HBsAg+ et HBeAg+ : 2	17	11,76%	Mauvais pronostic
Nombre de sérums HBsAg+ et anti HBe+ : 13	22	59,09%	Bon pronostic
Nombre de sérums HBsAg- et anti HBe+ : 3	7	42,85%	Sujets immuns
Nombre de sérums HBsAg- et anti HBe+ : 3	4	75%	Sujets guéris de l'hépatite en train de faire son immunité

Tableau 14: Recherche des différents marqueurs du virus de l'hépatite B.

5.6 Résultats des analyses effectuées à Paris (France)

L'ADN viral fut recherché dans certains sérums HBsAg+ dans le service de recombinaison génétique du Professeur Pierre-Tiollais à l'Institut Pasteur de Paris par la technique d'hybridation des acides nucléiques. Le tableau suivant résume les résultats obtenus.

	Nombre de sérums testés	Pourcentage
Nombre de sérums HBsAg+ et DNA+ : 13	45	28,88%
Nombre de sérums HBsAg+ et DNA- : 32	45	71,11%

Tableau 15: Recherche du DNA viral dans les sérums HBsAg+.

Mieux que la présence de l'antigène HBe, la mise en évidence de l'ADN viral dans le sérum par la méthode d'hybridation des acides nucléiques permet d'affirmer avec certitude la présence du virus chez le malade. Tous les sérums HBsAg+ ADN+ contiennent donc la particule de Dane. Ce qui confirme l'état de porteuses dangereuses de ces jeunes femmes. Elles vont transmettre très probablement le virus de l'hépatite B à leurs enfants. Dans notre étude leur nombre n'est pas négligeable (28,88%) vu les conséquences fâcheuses auxquelles elles exposent leurs enfants.

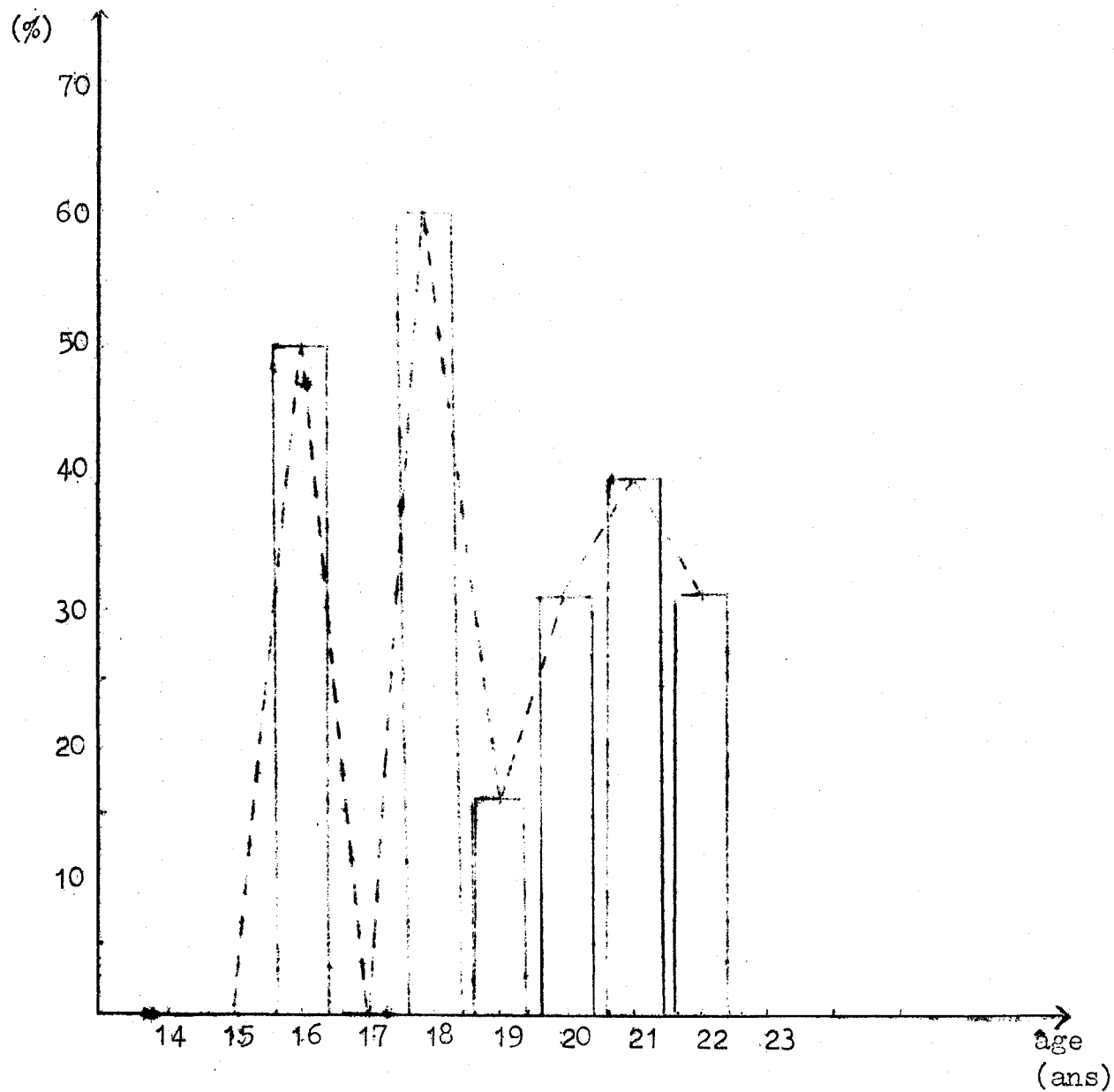
5.6.1 Age

Concernant l'âge, nous avons les taux les plus élevés à 16 ans - 18 ans - et 21 ans, comme le démontre le tableau suivant:

Age	Nombre total	DNA+	DNA-	Pourcentage
22 ans	3	1	2	33,33%
21 ans	5	2	3	40%
20 ans	15	5	10	33,33%
19 ans	6	1	5	16,66%
18 ans	5	3	2	60%
17 ans	5	0	5	0%
16 ans	2	1	1	50%
15 ans	1	0	1	0%
14 ans	1	0	1	0%
Total	43	13	30	30,23%

Tableau 17: Prévalence du portage du DNA suivant l'âge.

Taux de DNA



□ : histogramme
- - - : polygone de fréquence

Figure 12: Représentation graphique du portage du DNA suivant l'âge.

Ce polygone de fréquence ne correspond pas exactement avec celui du portage de l'antigène HBs.

5.6.2 Ethnie

Les sujets dont les sérums renferment l'ADN viral se répartissent de la façon suivante dans les différentes ethnies.

Ethnie	Nombre total	ADN+	ADN-	Pourcentage
Bambara	17	8	9	47,05%
Malinké	10	2	8	20%
Peulh	6	0	6	0%
Sarakolé	2	0	2	0%
Sonraï	4	2	2	50%
Sénoufo	1	0	1	0%
Kassonké	1	0	1	0%
Dogon	1	0	1	0%
Minianka	1	1	0	100%
Maure	1	0	1	0%
Wolof	1	0	1	0%
Total	45	13	32	28,88%

Tableau 16: Prévalence du portage de l'ADN suivant l'ethnie.

VI

DISCUSSION

6.1 Taux obtenus ailleurs

Infection contagieuse de l'homme, l'hépatite B est retrouvée un peu partout dans le monde. Selon l'OMS les 176.000.000 de porteurs de HBsAg sont très inégalement repartis dans le monde (60). Ainsi les taux varient selon les régions de la façon suivante:

0,5%	aux USA et en Europe Occidentale
1 - 2%	en Amérique du Sud et en Europe du Sud
3 - 5%	en Afrique du Nord et en URSS
6 - 10% et plus	en Afrique au Sud du Sahara et en Asie du Sud Est.

Dans une même zone, le taux de portage de HBsAg varie suivant les populations (65). C'est ainsi qu'aux USA certaines régions très développées peuvent présenter un taux allant jusqu'à 70% au sein de certaines populations. La foule et l'environnement pourront expliquer de tels faits (65).

Les études ont montré que la prévalence du portage de HBsAg est variable selon le sexe et la race (65). Les hommes sont plus fréquemment HBsAg positifs que les femmes; les noirs et les orientaux le sont également plus que les sujets de race blanche. Ceci semble bien être confirmé par nos résultats.

La prévalence du portage de HBsAg est plus élevée chez les enfants à bas âge que chez les adultes (25-60).

En Afrique, le taux de portage de HBsAg varie d'un pays à un autre. Nutti fait une première approximation du taux moyen à 7% (17). Des auteurs comme Diebolt et collaborateurs suggèrent le rôle favorable d'un climat sec et chaud avec une végétation peu dense pour la propagation du virus de l'hépatite B. A cet effet le taux de 10,5% de porteurs serait trouvé en climat Sahélien et celui de 5,5% seulement en climat équatorial.

Selon des études faites sur 1040 sérums par immuno-électrophorèse à contre courant sur cellogel et par le test d'hémagglutination passive directe des Laboratoires Wellcome, la prévalence de HBsAg à Liéville est de 8,076% soit 84 sérums positifs (43).

Ce taux se répartit ainsi selon le sexe: sexe féminin 8,04% (26 sur 323) et sexe masculin 8,08% (58 sur 717). Ce portage de HBsAg est plus élevé entre 11 et 20 ans: 17,25%. Ce taux de portage de HBsAg à Libreville est comparable à ceux d'Abidjan: 7% et de Dakar: 8% (43).

A Brazzaville 11 des 120 sérums analysés, par la technique d'hemagglutination passive (HP) et la technique de la radio immunologie (RI), sont HBsAg positifs soit 9,16% (56). Egalement 90% des malades souffrant de cancer primitif du foie sont HBsAg positifs (18 sur 20).

Pays	Référence	Nombre	HBsAg+	Pourcentage	Techniques
Angola	Prince	100	6	6%	ID
Cameroun	Savina	393	25	6,3%	EID
Centrafrique	Prince	210	2	0,9%	ID
Congo	M'Gapora et coll.	120	11	9,16%	HP, RI
Zaire	Muyembé	2040	76	3,72%	EID
Gabon	M'Bina N.C. et coll.	1040	84	8,076%	HP, CEP

Tableau 18: Fréquence des porteurs sains en Afrique Centrale (56).

Tous nos résultats suggèrent une similitude avec le taux obtenu au Sénégal. En effet, à la RIA la prévalence de HBsAg au Sénégal est de 15,1% (14), tandis que à l'ELISA nous avons obtenu un taux de 15,79% et à l'EID un taux de 7,69%. Des études antérieures utilisant l'EID ont trouvé au Mali un taux de portage variant entre 7,42 et 11,2% (14 - 34 - 59 - 68).

Tous ces résultats confirment la prévalence très élevée en Afrique Occidentale (10 à 15%) par rapport à l'Afrique Centrale (3 à 7%) selon des techniques de première ou de deuxième génération.

Quant à la Tunisie comme dans toute l'Afrique du Nord, le taux de portage de HBsAg est encore relativement faible. Il va de 3 à 5% par la technique radioimmunologique (6).

Le tableau suivant récapitule les résultats obtenus à travers le monde par ID ou EID (59).

Pays	Nombre	HBsAg+	Prévalence	Auteurs
Centrafrique	210	2	0,9%	Prince
Mozambique	100	1	1%	Prince
Tunisie	15982	280	1,9%	Bouquerra Jacquet
Nigéria	90	2	1,9%	Prince
Ouganda	311	6	1,9%	Prince
Togo	45	2	4,4%	Diebolt
Côte d'Ivoire	266	15	5,6%	Diebolt
Bénin	603	40	6%	Linhard
Ghana	100	6	6%	Prince
Angola	100	6	6%	Prince
Mali	2624	248	9,45%	Sidibé
Mali	296	27	9,1%	Diebolt
Mauritanie	92	10	10,9%	Diebolt
Guinée	71	8	11,3%	Diebolt
Sénégal	5015	610	12,6%	Diebolt
Sénégal	2271	286	12,6%	Darrassé
Haute Volta	219	30	13,7%	Diebolt
Niger	60	9	15%	Linhard
France	315054	942	0,3%	Cazal
USA	58956	55	0,1%	Prince
Japon	5239	105	2%	Okochi

Tableau 19: Prévalence de HBsAg dans certaines zones d'Afrique et du monde.

6.2 Techniques utilisées

6.2.1 L'originalité de notre étude réside dans la méthode de détection de HBsAg utilisée: l'ELISA. Elle répond à toutes les exigences d'une technique de troisième génération. Elle est de très loin plus sensible que les autres techniques dites de première ou de deuxième génération, et concurrence la technique radio-immunologique: RIA qui est également une technique de troisième génération.

6.2.2 A côté de cette technique, nous avons également utilisé l'électro-immuno-diffusion (EID). Cela nous a permis d'apprécier surtout la sensibilité et la spécificité de l'ELISA. Il ressort que l'ELISA est à peu près deux fois plus sensible que l'EID. Les tableaux suivants en témoignent très éloquemment:

Age	Nombre de sérums testés	HBsAg+		HBsAg-		Prévalence du portage de HBsAg	
		ELISA	EID	ELISA	EID	ELISA	EID
25 ans	50	6	2	44	48	12%	4,16%
24 ans	50	10	2	40	48	20%	4,16%
23 ans	50	5	1	45	49	10%	2,04%
22 ans	50	6	5	44	45	12%	10%
21 ans	50	5	3	45	47	10%	6%
20 ans	50	10	6	40	44	20%	12%
19 ans	50	9	6	41	44	18%	12%
Total	350	51	25	299	325	14,57%	7,69%

Tableau 20: Comparaison des 2 techniques utilisées pour la détermination de la prévalence du portage de HBsAg chez les 350 femmes en fonction de l'âge.

Ethnie	Nombre de sérums testés	HBsAg+		HBsAg-		Prévalence du portage de HBsAg	
		ELISA	EID	ELISA	EID	ELISA	EID
Bambara	153	24	13	130	141	15,68%	8,49%
Malinké	47	7	4	40	43	14,89%	8,51%
Peulh	57	7	3	50	54	12,28%	5,26%
Sarakolé	35	3	2	32	33	8,57%	6,06%
Somraï	19	4	1	15	18	21,05%	5,55%
Sénoufo	8	1	1	7	7	12,50%	12,50%
Kassonké	7	1	0	6	7	14,28%	0%
Dogon	6	2	0	4	6	33,33%	0%
Mini anka	4	1	0	3	4	25%	0%
Maure	4	1	1	3	3	25%	25%
Bobo	2	0	0	2	2	0%	0%
Wolof	2	0	0	2	2	0%	0%
Bozo	1	0	0	1	1	0%	0%
Mossi	1	0	0	1	1	0%	0%
Samogo	1	0	0	1	1	0%	0%
Métisse	1	0	0	1	1	0%	0%
Dafing	1	0	0	1	1	0%	0%
Sosso	1	0	0	1	1	0%	0%
Total	350	51	25	299	325	14,57%	7,69%

Tableau 21: Comparaison des 2 techniques utilisées pour la détermination de la prévalence du portage de HBsAg chez les 350 femmes en fonction de l'ethnie.

6.2.3 Sur les 94 sérums venus du Point G, 89 dont 75 sérums d'homme et 14 sérums de femme avaient été analysés par la RIA. De cette analyse il ressort 53 sérums HBsAg positifs au total (59,55%): 48 sérums d'homme (64%) et 5 sérums de femme (35,71%). Ceci nous a une fois de plus permis de faire une étude comparative de l'ELISA et de la RIA qui se résume dans le tableau suivant:

Sexe	Nombre total	Pourcentage de la population	HBsAg+		HBsAg-		Pourcentage de HBsAg+	
			ELISA	RIA	ELISA	RIA	ELISA	RIA
Masculin	75	84,27%	48	48	27	27	64%	64%
Féminin	14	15,73%	8	5	6	9	57,14%	35,71%
Total	89	100%	56	53	33	36	62,92%	59,55%

Tableau 22: Prévalence du portage de HBsAg chez les malades (C.P.F. par l'ELISA et par la RIA.

6.3 Intention d'une telle étude

En zone soudanaise, la transmission verticale de l'hépatite virale B est très importante. Elle est surtout favorisée par les conditions socio-culturelles. Egalement le portage de HBsAg est très élevé chez les enfants à bas âge (entre 0 et 5 ans).

Des études faites au Sénégal ont montré que les mères HBsAg positives, porteuses de HBeAg transmettent HBsAg à leur enfant dans 66,7% des cas et que celles HBsAg positives et anti HBeAg positives transmettent HBsAg à leur enfant dans 8,3% des cas (17).

Les mères étant donc cause principale de cet état de fait, explique le choix de notre échantillon. Les résultats obtenus nous permettent de susciter l'instauration d'une politique d'interruption de la transmission verticale de l'hépatite virale B. La meilleure solution serait la vaccination. Il en existe trois types qui ont tous fait la preuve de leur innocuité et de leur efficacité (25 - 52 - 76). La vaccination a un double intérêt: d'une part elle protège contre une infection par le virus de l'hépatite B et d'autre part elle contribuerait à un abaissement du taux de prévalence du C.P.F. qui a un rapport très étroit avec l'hépatite virale B (18).

VII

CONCLUSION

Notre travail nous a permis de déterminer la prévalence du portage de l'antigène HBs chez les jeunes femmes de 14 à 30 ans vivant à Bamako et banlieue. Cette prévalence fait partie de l'une des plus élevées d'Afrique Occidentale où sont retrouvés les plus hauts taux de HBsAg du monde.

Les études antérieures ayant montré que le taux de portage de HBsAg est plus élevé en zone urbaine qu'en zone rurale, nous nous réserverons de ne pas prendre ce taux comme standard au Mali.

Puis, grâce à cette technique de dernier jour: la méthode d'hybridation de l'acide nucléique, la détermination de l'ADN fut faite, levant ainsi le doute que pouvait poser la présence de l'antigène HBe dans le sérum en ce qui concerne la transmission verticale de l'hépatite B. De cette analyse, il ressort que le choix de ce sujet de thèse est opportun car elle met en évidence la gravité du problème de l'hépatite B, menaçant ainsi la santé de la population et plus particulièrement celle des nouveaux nés.

Ce travail se divise en trois parties.

Une première partie bibliographique, où nous avons traité les différents marqueurs serologiques et l'immunologie de l'hépatite B. Le virus responsable est actuellement très bien étudié et le diagnostic biologique de la maladie se fait facilement grâce aux nouvelles techniques mises au point.

Surtout technique, la deuxième partie se compose de:

- sujets étudiés, comportant toutes les ethnies retrouvées à Bamako. Certaines ne sont pas largement représentées; mais d'une façon générale, nous dirons que toutes les ethnies sont représentées dans des taux presque semblables à ceux retrouvés dans la population globale de Bamako. Les âges ont été fixés dès le départ.

- méthodes de détection de l'antigène HBs utilisées. Seules ont été retenues l'EID et l'ELISA. Cette dernière ayant fait le mérite de notre travail. Une troisième méthode a été utilisée: la RIA, au service du Professeur B. Duflo et les résultats nous ont été communiqués.

- résultats très éloquentes plaçant le Mali parmi les pays ayant les plus hauts taux de portage de HBsAg. Chez les malades présentant un C.P.F., la prévalence est encore plus élevée; ce qui montre le rôle important de l'antigène HBs dans cette pathologie humaine. Ici également, les résultats concernant la recherche de l'antigène HBe et l'ADN ont été portés. Ils nous ont permis de confirmer que certaines jeunes femmes sont susceptibles de transmettre l'antigène HBs à leur nouveau-né.

La troisième partie a fait l'objet d'une discussion. Dans ce chapitre nous avons fait mention de l'importance de l'hépatite B dans le monde. Les différents taux trouvés dans beaucoup de pays ont été portés; et d'une façon générale, il ressort que l'Afrique Occidentale détient les taux les plus élevés. Une classification des différentes techniques utilisées, nous a permis d'apprécier la très grande sensibilité des techniques immuno-enzymatique et immuno-radiologique.

Au terme de cette étude, nous recommandons la classification de l'hépatite B parmi les priorités des problèmes de santé publique au Mali. Le rôle des conditions socio-économiques étant capital, l'instauration d'une politique éducative visant à promouvoir l'hygiène collective et individuelle est obligatoire. La prévention contre ce fléau sera complète si l'on associait une vaccination chez les enfants dès la naissance. Egalement, cette vaccination effectuée chez les femmes aboutit à la protection de 20% des nouveaux-nés (25).

BIBLIOGRAPHIE

1. Almeida (J.D.), Rubenstein (D.), Stott (E.J.)
Antigene-Antibody system in Australia-antigen positive hepatitis.
Lancet, 1971: 1225 - 1227
2. Alter (H.J.)
The dominant role of non A non B in the pathogenesis of post transfusion hepatitis: A clinical assessment.
Climes in gastroenterology, 1980, 9, (1): 155 - 169
3. Bader (J.P.) et Perot (V.)
Manifestations cliniques des hépatites virales et de leurs complications chez l'Européen.
Med. Afr. Noire, 1982, 29, (10): 657 - 662
4. Beasley (R.P.) and Stevens (C.E.)
Vertical transmission of HBV and interruption with globulin in
Bianchi (L.) et al.
Virus and the liver.
Basel: MTP press limited, 1979: 333 - 345
5. Bianchi (L.) and Gudat (F.)
Viral antigens in liver tissu and type of inflammation in hepatitis B.
in
Bianchi (L.) et al.
Virus and the liver.
Basel: MTP press limited, 1979: 197 - 204
6. Boujnah (A.), Ayed (Kh.), Gorgi (Y.), Makni (S.) Khoujet (El.), Khil (A.) et Meknini (B.)
Virus hépatite B et cirrhose.
Ann. de microbio., 1982, 133A, (3): 504
7. Bréchet (C.), Pourcel (C.), Hadchouel (M.), Dejean (A.), Louise (A.), Scotto (J.), et Tiollais (P.)
State of Hepatitis B Virus DNA in liver diseases.
Hepato., 1982, 2, (2): 27S - 34S

8. Bréchet (C.), Malpas (P.), Couroucé (A.M.), Duhamel (G.), Callard (P.), Carnot (F.), Tiollais (P.) and Berthelot (P.)
Evidence that hepatitis B virus has a role in liver cell carcinoma in alcoholic liver disease.
The new Engl. Journ. med., 1982, 306, (23); 1384 - 1387
9. Brechet (C.), Scotto (J.), Charnay (P.), Hadchouel (M.), Degos (F.), Trepo (C.), Tiollais (P.)
Detection of hepatitis B virus DNA in liver and serum: a direct appraisal of the chronic carrier state.
The Lancet, 1981; 766 - 767
10. Bricout (F.)
Applications à la virologie.
11. Connel (A.O.) and Millman (I.)
Genome of hepatitis B virus: restriction enzyme cleavage and structure of DNA extracted from Dane particles.
Med. sciences, 1975, 11; 4597 - 4601
12. Grosnier (J.), Jungers (P.), Couroucé (A.M.), Laplanche (A.), Benhamou (E.), Degos (F.), Lacour (B.), Prunet (P.), Cerisier (Y.) Guesry (P.)
Randomised placebo-controlled trial of hepatitis B surface antigen vaccine in French Haemodialysis units: I, med. staff.
The Lancet, 1981, 8217; 455 - 459
13. Dane (D.S.), Cameron (C.H.), Briggo (M.)
Virus like particles in serum of patients with Australia-antigen associated hepatitis.
The Lancet, 1970; 695 - 698
14. Dembélé (E.)
Nouvelle contribution à l'étude de l'hépatite B virale B en République du Mali.
Thèse: Med., Bamako, 1982, N° 23
15. Denis (F.), Yvonnet (B.), David (M.) et Mboup (S.)
Les virus des hépatites et le diagnostic virologique des hépatites virales.
Med. Afr. Noire, 1982, 29, (10); 649 - 655

16. Dienstag (J.L.) and Isselbacher (K.J.)
Summary to part 5 - therapy.
in
Blanchi (L.) and al.
Virus and the liver.
Basel MTP press limited, 1979; 371 - 385
17. DiopMar (I.) et Cadoz (M.)
Epidemiologie des hépatites virales en Afrique.
Med. Afr. Noire, 1982, 29, (10): 663 - 673
18. DiopMar (I.), Yvonnet B., Denis (F.), Perrin (J.), Ndoye (R.),
Chiron (J.P.), Barin (F.), Goudeau (A.), Coursaget (P.)
Prévention par la vaccination du portage chronique de
l'antigène HBs en zone endémique: l'exemple de Niakhar
(Sénégal).
Xè journées médicales de Dakar
19. Eddleston (A.L.W.F.)
Significance of the HLA system in hepatitis.
in
Blanchi (L.) and al.
Virus and the liver.
Basel MTP press limited, 1979: 111 - 117
20. Fall (M.), Martin (S.L.), Ba (M.), Kuakuvi (N.K.), Sarr (M.),
Sow (H.D.) et Senghor (G.)
Expressions cliniques et complications des hépatites
virales chez l'enfant à propos de 28 observations recueil-
lies dans le service de pédiatrie du C.H.U. de Dakar.
Med. Afr. Noire, 1982, 29, (10): 675 - 684
21. Felley (J.), Frei (Ph.C.)
L'immunologie de l'hépatite virale.
Med. hyg., 1980, 1391: 2997 - 3001
22. Frösner (G.G.), Deinhardt (F.), Roggendorf (M.), Scherd (R.)
and Zachoval (R.)
Laboratory diagnosis of hepatitis A infection.
in

- Bianchi (L.) and al.
Virus and the liver.
Basel MTP press limited, 1979: 17 - 25
23. Gerber (M.A.), Thung (S.N.) and Popper (H.)
Localization of fetal antigens in relation to HBsAg in
hepatocytes.
in
Bianchi (L.) and al.
Virus and the liver.
Basel MTP press limited, 1979: 205 - 208
24. Gitnick (G.)
Perspectives on viral hepatitis: non A non B hepatitis.
USA: Abbott diagnostics division, 1981
25. Goudeau (A.), Dubois (F.), Barin (F.) et Coursaget (P.)
Le vaccin contre l'hépatite virale (1ère partie).
La rev. méd. therap., 1982, 16
26. Groote (J.)
Taxonomy of hepatitis.
in
Bianchi (L.) and al.
Virus and the liver.
Basel MTP press limited, 1979: 151 - 159
27. Hilleman (M.R.), Buynah (E.B.), Roehm (A.R.), Tytell (A.A.),
Bertland (A.W.), Lempoon (G.P.)
Purified and inactivated human hepatitis B vaccine: pro-
gress report.
Pennsylvania, 1975, 270, (2): 401 - 404
28. Hoofnagle (J.H.)
Hepatitis B surface antigen (HBsAg) and antibody (anti HBs)
in
Bianchi (L.) and al.
Virus and the liver.
Basel MTP press limited, 1979: 27 - 37

29. Hofnagle (J.H.)
Perspectives on viral hepatitis: types A and B viral hepatitis.
USA: Abbott diagnostics division, 1981
30. Hoofnagle (J.H.), Gerety (R.J.) and Barker (L.F.)
Antibody to hepatitis B virus core in Man.
The Lancet, 1973: 869 - 873
31. Kofman (S.)
Hépatite virale: un guide clinique pour la prévention et le diagnostic.
Chicago, Abbott, 1978
32. Krugman (S.)
The different agents of viral hepatitis.
in
Bianchi (L.) and al.
Virus and the liver.
Basel: MTP press limited, 1979: 3 - 7
33. Mackay (I.R.)
Immunological interactions involving virus and liver: a synthesis.
in
Bianchi (L.) and al.
Virus and the liver.
Basel MTP press limited, 1979: 131 - 135
34. Magassa (N.)
Le cancer primitif du foie à Bamako
Thèse: Me., Bamako, 1982
35. Mathiensen (L.R.)
The hepatitis A virus infection.
Liver, 1981, (1): 81 - 109

36. Maupas (P.), Barin (F.), Chiron (J.P.), Coursaget (P.),
Goudeau (A.), Perrin (J.), Denis (F.), DiopMar (I.).
Efficacy of hepatitis B vaccine in prevention of early
HBsAg carrier state in children controlled trial in a
endemic area (Senegal).
The Lancet, 1981, 8215: 290 - 292
37. Maupas (P.), Coursaget (P.), Goudeau (A.), Drucker (J.),
Bagros (P.).
Immunisation against hepatitis B in Man.
The Lancet, 1976: 1367 - 1370
38. Maupas (P.), Coursaget (P.), Goudeau (A.), Drucker (J.),
Grenier (B.).
Nouveaux marqueurs du virus de l'hépatite B. Intérêt
diagnostique et pronostique.
Nouv. pres. med., 1977, 6, (1): 32 - 40
39. Maupas (P.), Goudeau (A.), Coursaget (P.), Drucker (J.),
Bagros (P.).
Hepatitis B - vaccine: efficacy in high risk setting,
a two year study.
Interviro., 1978, 10: 196 - 208
40. Maupas (P.), Goudeau (A.), Coursaget (P.), Drucker (J.),
Bagros (Ph.), Baudin (S.).
La vaccination contre l'hépatite B chez l'homme.
Nouv. pres. méd., 1977, 6: 27 - 31
41. Maynard (J.E.).
Viral hepatitis as an occupational hazard in the health
care profesion.
in
Bianchi (L.) and al.
Virus and the liver.
Basel: MTP press limited, 1979: 321 - 331

42. Maynard (J.) and Bradley.
Hepatitis A virus.
in
Bianchi (L.) and al.
Virus and the liver.
Basel: MTP press limited, 1979: 9 - 15
43. Mbina (N.C.), Nziengui (M.) et Koudogbo (B.).
Prévalence de l'antigène de l'hépatite HBs dans une population urbaine de Libreville. A propos de 1040 cas.
Med., Afr. Noire, 1981, 28, (12): 751 - 752
44. Mezer (T.N.), Krawczynski (K.), Michalak (T.) and Nowoslawski (L.).
Intercellular localization of HB antigens in liver tissue
in
Bianchi (L.) and al.
Virus and the liver.
Basel: MTP press limited, 1979: 85 - 95
45. Montheard (L.L.).
L'hépatite B en Afrique.
Med. digest, 1982, 8, (4): 21 - 25
46. Mosley (J.W.).
Epidemiology of HAV infection.
in
Vyas (G.N.) and al.
Viral hepatitis.
The Franklin institute press, 1978: 85 - 104
47. Moustardier (G.).
Virologie médicale.
Paris - Librairie Maloine S.A. Editeur, 1973
48. Norkrans (G.), Magnius (L.), Iwarson (S.).
e antigen in acute hepatitis B.
British med. journ., 1976, 1: 740 - 742

49. Nydegger (U.E.) and Miescher (P.A.).
Detection and clinical implication of circulating immune complexes in hepatitis B virus infection.
in
Bianchi (L.) and al.
Virus and the liver.
Basel: MTP press limited, 1979: 183 - 195
50. Okuda (K.), Nakashima (T.) and Obata (H.).
Hepatitis B virus and primary liver cell carcinoma.
in
Bianchi (L.) and al.
Virus and the liver.
Basel: MTP press limited, 1979: 209 - 215
51. Perrillo (R.P.).
Perspectives on viral hepatitis the hepatitis viruses:
differential diagnosis.
USA: Abbott diagnostics division, 1981
52. Pillot (J.).
La prévention des hépatites virales: la vaccination contre le virus de l'hépatite B.
La rev. Prat., 1981, 31, (59): 4259 - 4266
53. Purcell (R.H.).
Round table discussion: Non A, Non B hepatitis.
in
Bianchi (L.) and al.
Virus and the liver.
Basel: MTP press limited, 1979: 119 - 127
54. Purcell (R.H.) et Gerin (J.L.).
Hepatitis B subunit vaccine: a preliminary report of safety and efficacy tests in chimpanzées.
Amer. journ. med. sciences, 1975, 270: 395 - 399

55. Robinson (W.S.) and Albin (C.).
The structure of hepatitis B virus.
in
Bianchi (L.) and al.
Virus and the liver.
Basel: MTP press limited, 1979: 39 - 47
56. Sankalé M. et Sow (A.M.).
Cancer primitif du foie et virus de l'hépatite B en
Afrique Noire.
Med. Afr. Noire, 1977, 24, (12): 819 - 823
57. Savina (J.F.), Nguematcha (R.), Jan (C.) et Ravisse (P.).
Dépistage de l'antigène australien et de l'alpha-foeto-
proteine dans la région de Yaoundé, et sur une population
"pygmée" de la région de Djoum.
Med. Afr. Noire, 1975, 22 (5): 381
58. Sherlock (S.).
Round table discussion: Prophylaxis/vaccination.
in
Bianchi (L.) and al.
Virus and the liver.
Basel: MTP press limited, 1979: 387 - 409
59. Sidibé (S.).
Les marqueurs sérologiques de l'hépatite B au Mali.
Thèse: Méd., Bamako, 1981.
60. Sobeslavsky (O.).
HBV as a global problem.
in
Bianchi (L.) and al.
Virus and the liver.
Basel: MTP press limited, 1979: 347 - 356
61. Sohier (R.) et Trépo (C.).
Hépatites virales.
Encycl. Méd. chir. Paris. Maladies infectieuses 8065F¹⁰,
5, 1981

62. Soulier (J.P.) and Couroucé Pauty (A.M.).
New determinants of hepatitis B antigens (Aw or HB antigen)
Vox sang, Paris, 1973, 25: 212 -235
63. Soulier (J.P.) et Couroucé (A.M.).
Progrès concernant les hépatites.
Rev. Franç. transfus. et immunohemato., 1981, 24, (5)
501 - 517
64. Stevens (C.E.) and Szmuness (W.).
Vertical transmission of hepatitis B and neonatal hepatitis
B.
in
Bianchi (L.) and al.
Virus and the liver.
Basel: MTP press limited, 1979: 285 - 291
65. Szmuness (W.), Harley (E.J.), Ikram (H.) and Stevens (C.E.).
Sociodemographic aspects of the epidemiology of hepatitis B
in
Bianchi (L.) and al.
Virus and the liver.
Basel: MTP press limited, 1979; 297 - 320
66. Szmuness (W.), Oleszko (W.R.), Stevens (C.E.), Goodman (A.).
Passive-active immunisation against hepatitis B: immuno-
genicity studies in adult americans.
The Lancet, 1981: 575 - 577
67. Szmuness (W.), Stevens (C.E.), Harley (E.J.), Zang (E.A.),
Odeszko (W.R.), William (D.C.), Sodovsky (R.), Morrison (J.M.)
and Kedener (A.).
Hepatitis B vaccine.
Demonstration of efficacy in a controlled clinical trial
in a high risk population in the United States.
New Engl. journ. med., 1980: 833 - 841
68. Tangara (A.).
Contribution à l'étude du portage de l'antigène HBs chez
des sujets apparemment sains au Mali.
Mémoire: Pharm., Bamako, 1981

69. Thomas (H.C.).
Cellular immunity to the hepatitis B virus.
in
Bianchi (L.) and al.
Virus and the liver.
Basel: MTP press limited, 1979: 161 - 167
70. Tiollais (P.), Charnay (P.) and Vyas (G.N.).
Biology of hepatitis B virus.
USA sciences, 1981, 213: 406 - 411
71. Tong (M.J.), Thursky (M.W.), Lin (J.H.), Weissman (J.Y.) et
McPeak (C.M.).
Transmission mère - enfant de l'hépatite B.
Med. Afr. Noire, 1981, 28, (4): 245 - 247
72. Trépo (C.).
Hépatites à virus: la sérologie se précise.
Med. digest, 1982, 8, (3): 4 - 8
73. Trépo (C.) et Couroucé (A.M.).
Immunologie et immunophylaxie des hépatites virales.
Rev. prat., Paris, 1980, 30, (13): 845 - 858
74. Trépo (C.), Vitvitski (L.), Hantz (O.), Blanchy (B.),
Pichoud (C.), Chevallier (Ph.) and Sepetjan (M.).
Nature and significance of HBeAg specificities.
in
Blanchi (L.) and al.
Virus and the liver.
Basel: MTP press limited, 1979: 49 - 57

- 11 -
75. Voller (A.), Bidwell (D.) and Bartlett.
Microplate enzyme immuno-assays for the immunodiagnosis
of virus infections.
Manual of clinical immun., 1976: 506 - 512
76. Yvonnet (B.), Digoutte (Ph.), Denis (F.) et Correa (P.).
Prévention de la transmission mère - enfant du virus de
l'hépatite B (HBV) par la vaccination du nouveau-né.
Xèmes journées médicales de Dakar, 1982.
77. Zuckerman (A.J.).
Priorities for immunisation against hepatitis B.
Brit. méd. journ., 1982, 284: 686 - 688

S E R M E N T

Je jure, en présence des maîtres de la faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples:

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine; en aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.