

République Algérienne Démocratique et Populaire

Université Abdelhamid Ibn
Badis-Mostaganem
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE
MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

BENNAMA SOUHILA et BENABED CHERIFA

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN BIOLOGIE

Spécialité : génétique fondamentale et appliquée.

THÈME

L'hépatite C :
Génétique et épidémiologie

Soutenue le 29/06/2020

DEVANT LE JURY

Président	Mr. DJIBAOUI R.	Prof	Université de Mostaganem
Examineur	Mr. BENALI S.	M.A.A	Université de Mostaganem
Encadreur	Mr. CHIBANI ABDELWAHAB.	Prof	Université de Mostaganem

2019-2020

REMERCIEMENTS

Nous remercions Dieu tout puissant de nous avoir accordé santé, courage et la volonté pour accomplir ce modeste travail.

Nous tenons également à remercier notre encadreur professeur CHIBANI pour l'aide et l'assistance qu'il nous a fournis afin de nous permettre de mener à bien et à terme ce mémoire de fin d'études, et qu'il nous soit permis de leurs exprimer notre profonde reconnaissance.

Nous exprimons notre grand respect aux honorables membres de jury qui ont accepté d'évaluer ce travail.

Nous tenons tout simplement à exprimer notre profonde gratitude a tous ceux qui nous ont soutenus de près ou de loin durant tout notre cursus et espérant que ce mémoire servira de guide pour les promotions à venir.

Dédicace

Je dédie ce travail à deux personnes que j'aime le plus sur terre et auxquelles je ne cesserai de dédier tous mes succès

Ma mère LIMAM. A cet ange de tendresse et de générosité, pardonne-moi chaque minute de souffrance que je t'ai causée durant ce dur labeur ; je t'aime très fort chère ange.

Cher père BENNAMA. A qu'est toujours à mes côtés près de moi pendant mes moments de faiblesse celui qui a toujours sur le réconforter et me consoler sans montrer Les moindres sentiments

*Je tiens aussi à dédier ce modeste travail :
A moi-même et mon binôme **BENABED CHERIFA***

A mon très cher frère **MOHAMMED** qui m'aide beaucoup dans tout mon travail.

A mes chères sœurs **KHAIRA, NASSIRA, FATIMA et AMEL.**

*A mon cher fiancé **BAGHDAD.T** et à toute sa famille.*

A tout mes amies, et ceux qui me sont chères.

Je dédie cette mémoire à ...

C'est grâce à Dieu le tout puissant qui m'a donné le courage et la volenté pour
achever ce modeste travail que je dédie à

Mon cher père BENABED, M et ma chère mère SEDDIK, KH

Qui ont sacrifié leur vie pour notre réussite et nous

Ont éclairé le chemin par Leur conseil judicieux.

Nous n'espérons qu'un jour,

Nous pourrons leurs rendre un peu de ce

Qu'ils ont fait pour nous, que dieu leur prête

Bonheur et longue vie.

Je dédie ce modeste travail à mes enseignant et surtout, Dr CHIBANI .M

A mon Frères, mes Sœurs, ma familles, mes Amis, Mes camarades de
promotion, pour votre soutien moral, et pour vos encouragements

Tout au long de ces années.

Je tiens aussi à dédier ce modeste travail :

*A moi-même et mon binôme **Benama souhila***

A tous ceux, qui, d'une manière ou d'une autre, ont contribué à l'aboutissement
de ce travail.

Benabed, ch.

Liste des abréviations

- **VHC** : virus d'hépatite C.
- **VHB** : virus d'hépatite B.
- **VIH**: human immunodeficiency virus.
- **VHA** : virus de l'hépatite A.
- **ADN**: Acide désoxyribonucléique
- **ADNc**: Acide désoxyribonucléique complémentaire
- **ARN**: Acide ribonucléique
- **AG** : antigène.
- **AC**: Anticorps
- **ELISA**: Enzyme linked immunosorbent assay
- **PCR**: Polymerase chain reaction
- **rLD**: Receptor of Low density lipoproteine
- **TGO**: Transaminase glutamino-oxaloacétique.
- **TGP**: Transaminase glutamyl-pyruvique
- **ALAT** : Alanine Aminotransférase
- **CM**: Cryoglobulinémie Mixte
- **ELISA**: Enzyme Linked Immunosorbent Assay
- **Ig**: Immunoglobuline
- **IRES** : Site interne d'entrée du ribosome.
- **ARFP**: alternative Reading frame protein.
- **TROD** : test rapide d'orientation diagnostique.
- **IgG** : immuno-globuline de type G. .
- **LBM** : laboratoire analyse médicale.
- **EDTA** : acide éthylène-Diamine-tétra-Acétique.
- **µl** : micro litre
- **DO** : densité optique.
- **CP** : contrôle positive.
- **NC** : Les régions non codantes
- **OMS** : Organisation Mondiale de la Santé
- **ORF**: Open Reading Frame
- **RBV** : Ribavirine

- **TVR** : T elaprevir
- **Kda** : Kilodalton
- **TPHA** : Tr epon eme Pallidum Hem agglutinations Assay

Liste des figures

Figure 1 : représentation du foie.....	3
Figure 2 : Taux de prévalence du virus de l'hépatite C par pays. 2011.....	6
Figure 3 : Schéma représente Evolution de l'hépatite C.....	13
Figure 4 : représentation schématique de VHC.....	20
Figure 5 : L'organisation génomique de VHC.....	21
Figure 6 : Génotype du HCV.....	23
Figure 7 : Structure de la protéine NS5B.....	27
Figure 8 : Organisation génomique et protéique du virus de l'hépatite C.....	29
Figure 9 : Représentation schématique du cycle.....	30
Figure 10 : Représentation d'un arbre phylogénétique des génotypes, sous types et isolats du VHC, région NS5.....	33
Figure 11 : matériel du test rapide.....	39
Figure 12 : microplaque d'ELISA.....	40
Figure 13 : les réactifs de la technique.....	41
Figure 14 : Répartition des patients en fonction du sexe.....	44
Figure 15 : Répartition des patients en fonction du sexe les cas positifs et négatifs.....	45
Figure 16 : les techniques utilisées pour le diagnostique du HCV.....	46

Liste des tableaux

Tableau 1: l'estimation de la prévalence de l'infection par le VHC dans le monde par région.....	6
Tableau 2 : Avantages et inconvénients des systèmes de dépistage des anticorps anti-VHC.....	17
Tableau 3 : répartition de la population étudiée.....	37
Tableau 4: Répartition des patients en fonction du sexe et les cas positifs et négatifs.....	44
Tableau 5 : les technique utilise pour le diagnostique du HCV.....	46

Table des matières

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction1

Etude bibliographique

1. le foie et les hépatites.....	3
1.1. Le foie.....	3
1.1.1. Le rôle du foie	4
2. l'hépatite C.....	4
2.1. L'Hépatite virale.....	4
3. Epidémiologie de l'hépatite C.....	5
3.1. Prévalence en Algérie.....	5
4. Modes de transmission.....	7
4.1. La drogue.....	7
4.2. Transfusion de Produits sanguins.....	7
4.3. Transmission Nosocomiale et iatrogène.....	8
4.4. Exposition professionnelle.....	8
4.5. Transmission de la mère à l'enfant.....	9
4.6. Transmission familiale.....	9
4.7. Transmission par voie sexuelle.....	9
5. Evolution de l'hépatite C.....	10
5.1. Hépatite aigüe.....	10
5.2. Hépatite chronique.....	10
5.2.1. L'hépatite chronique avec transaminases normales.....	11
5.2.2. L'hépatite chronique minime.....	11
5.2.3. L'hépatite chronique modérée ou sévère.....	12
5.3. Cirrhose.....	12
5.4. Carcinome hépatocellulaire.....	12
6. Aspects cliniques.....	13
6.1. Les transaminases.....	14
7. Réactions immunitaires et mécanismes d'échappement du virus.....	14

7.1. La réponse cellulaire.....	14
7.2. La réponse humorale.....	15
7.3. Les mécanismes d'échappement du virus.....	15
8. Techniques de diagnostic du VHC.....	16
8.1. Les tests indirects ou sérologiques.....	16
8.1.1. Test ELISA.....	16
8.1.2. Les TROD : tests rapides d'orientation diagnostique.....	17
8.2. Les techniques de biologie moléculaire.....	17
8.2.1. Détection qualitative de l'ARN du VHC.....	18
8.2.2. Quantification de l'ARN du VHC.....	18
9. Traitement de l'hépatite C.....	19
9.1. Evolution du traitement dans le temps.....	19
10. Découverte du virus de l'hépatite C.....	20
10.1. Organisation du génome.....	21
10.2. Caractéristiques et classification.....	21
10.3. Structure.....	22
11. Le Génome.....	22
11.1. Site interne d'entrée du ribosome la région 5'.....	23
11.2. Région codant les protéines virales.....	24
11.3. Région 3' non codante.....	24
12. Les protéines virales.....	24
12.1. Structurales.....	24
12.1.1. Protéine de capsid.....	24
12.1.2. Protéines d'enveloppe.....	25
12.2. Protéines Non structurales.....	25
12.2.1. NS2.....	25
12.2.2. NS3.....	26
12.2.3. NS4A.....	26
12.2.4. NS4B.....	26
12.2.5. NS5A.....	27
12.2.6. NS5B.....	27
12.2.7. La protéine p7.....	27
12.2.8. La protéine F.....	28
13. Récepteurs biologiques du VHC.....	28

13.1. Les récepteurs CD81.....	28
13.2. Les récepteurs des lipoprotéines de basse densité (Rldl).....	28
13.3. Le récepteur scavenger type B classe 1 (SRB1/Cla-1).....	29
14. Cycle cellulaire du virus de l'hépatite C.....	30
15. Production des protéines virales.....	30
16. Réplication.....	30
17. Assemblage et excrétion des virions.....	31
18. Variabilité génétique du VHC.....	31
19. Diversification des génotypes du VHC.....	32
20. Répartition géographique du génotype.....	33
21. Distribution en quasi espèce.....	33
22. Typage du génome viral.....	34
22.1. Typage sérologique.....	34
22.2. Typage moléculaire.....	34
23. Recombinaison génétique.....	35

ETUDE PRATIQUE

1. Problématique.....	36
2. Type, lieu et période d'études.....	36
3. Présentation du laboratoire de l'EPH de sidi Ali- MOSTAGANEM.....	36
3.1 Sérologie.....	36
4. Objectif.....	37
5. Population.....	37
6. Méthodologie de travail.....	37
6.1. Définition de dépistage.....	37
6.2. Indication de dépistage.....	38
7. Les techniques de dépistage du HCV.....	38
7.1 Les tests rapides.....	38
7.2. La technique ELISA « Enzyme Linked Immuno Sorbet Assay ».....	39
7.2.1. Définition.....	39
7.2.2. Principe.....	39
8. Matériels et Méthodes.....	40
8.1. Matériels et produits.....	40

8.1.1 Test rapide.....	40
8.1.2. Matériel d'ELISA.....	40
8.1.3 Réactifs.....	41
8.2. Mode opératoire.....	41
8.2.1 Test rapide.....	41
8.2.2 Technique ELISA.....	41
9. Calcul et interprétation des résultats.....	42
9.1 Test rapide.....	42
9.2 Technique ELISA.....	42
10. Interprétation des résultats.....	43

Résultats et discussion

1. Répartition des patients en fonction du sexe.....	44
2. Répartition des patients en fonction du sexe et les cas positifs et négatifs.....	44
3. La technique utilisée pour le diagnostic du HVC.....	45
Conclusion.....	46

Bibliographe

Résumé

Introduction
Générale

Introduction

Introduction

L'hépatite C est une maladie nécro-inflammatoire du foie, due à une infection par un virus hépatite C. Ce virus est considéré potentiellement dangereux vu qu'il risque de faire évoluer la maladie vers une cirrhose, voire un cancer du foie. Le virus de l'hépatite C (VHC) a été identifié à la fin des années 1980 comme l'agent responsable de la plupart des hépatites non-A non-B. » (Chooq *et al.* 1989)

Le VHC est un virus enveloppé à ARN qui fait partie du groupe des Flaviviridæ. Il n'existe pas actuellement de système efficace de culture du virus, ce qui constitue un handicap pour l'évaluation des méthodes diagnostiques et des agents thérapeutiques. Le tropisme du virus ne se limite pas à l'hépatocyte des séquences d'ARN viral ont été détectées notamment dans les cellules mononuclées du sang périphérique. L'infection à VHC est caractérisée par un risque élevé de passage à la chronicité et la multiplication virale persiste tout au long de l'évolution de la maladie. Dans environ 20 % des cas, cette hépatite évolue spontanément vers la guérison et dans environ 80 % des cas vers la chronicité. La probabilité de développer une cirrhose est estimée à 20 % après un délai moyen d'une quinzaine d'années. Une fois la cirrhose constituée, le patient est exposé aux risques de défaillance hépatique et/ou de survenue d'un carcinome hépatocellulaire dont l'incidence annuelle est de l'ordre de 3 à 5 %. L'infection à VHC peut être également à l'origine de manifestations extra-hépatiques variées dont certaines peuvent être améliorées par le traitement antiviral. La vitesse de progression de l'hépatite vers la cirrhose est modifiée par différents facteurs, notamment l'âge au moment de la contamination, le sexe et la consommation d'alcool.

Le virus C présente une grande hétérogénéité génétique. Il peut être classé en 6 génotypes majeurs, eux-mêmes subdivisés en plus de 70 de sous types. La connaissance de cette variabilité est importante sur le plan épidémiologique et thérapeutique. Leur distribution varie selon les régions du monde, le génotype 1 étant le plus fréquemment rencontré dans nos régions, suivi par les génotypes 2. Le génotype 4 est le génotype le plus rencontré en Afrique Centrale et au Moyen Orient. Les génotypes 5 et 6 sont plus marginaux et prédominent en Afrique du Sud pour le premier, en Asie du Sud Est pour le second

Des facteurs génétiques liés au système HLA et le génotype du virus lui même pourraient également intervenir. La variabilité importante du virus, expliquant son échappement à la réponse immune, rend également difficile l'obtention d'un vaccin efficace. La mise en œuvre d'une sélection stricte des donneurs de sang, associée au développement de

Introduction

tests sérologiques fiables, a permis une réduction considérable du risque transfusionnel et une baisse de l'incidence de l'infection. Actuellement, la toxicomanie devient le principal facteur de risque. Les autres facteurs sont moins bien documentés, mais la transmission nosocomiale a joué, sans doute, un rôle non négligeable

La transmission de VHC se fait de façon quasi exclusive par la voie sanguine, elle concerne les personnes transfusées avant 1992, celles ayant subi un acte diagnostique et thérapeutique invasif avant 1998 et surtout les usages de drogue par voie intra-veineuse ou transnasale

L'hépatite virale C (HVC) est considérée comme un problème majeur de santé publique à l'échelle mondiale. Selon l'Organisation mondiale de la Santé (OMS), le VHC, avec 170 millions de porteurs chroniques soit 3% de la population générale, est présent dans toutes les régions du monde mais avec des variations géographiques entre Afrique (5.3%), Amérique (1.7%), Méditerranée Orientale (4.6%), Europe (1%), Asie du sud-Est (2.2%) et Pacifique Occidentale (3.9%).

En Algérie, la prévalence de l'hépatite C est de 1%, soit 400 000 personnes potentiellement infectées dont plus de 70% sont concernées par le génotype 1. On ne dispose que des estimations selon lesquelles la séroprévalence du VHC varierait de 1,09 % à 7,63% dans les 6 wilayas de l'Est du pays (prévalence : 3,43%). (DK news, 2015). Son traitement est bien codifié et repose actuellement sur la bithérapie associant l'interféron et la ribavirine qui reste un traitement onéreux dans les pays sans couverture sanitaire généralisée comme l'Algérie.

L'ampleur de la population infectée et le risque d'évolution grave en 10 à 30 ans font de l'infection à VHC un enjeu important de santé publique. Des actions visant à sensibiliser le personnel de santé à l'égard de l'hépatite C et à encourager le dépistage et la prise en charge des malades sont recommandées. Jusqu'à aujourd'hui, les chercheurs n'ont pu mettre au point ni vaccin ni un traitement efficace qui guérit l'hépatite C à 100%. (OMS, 2015).

CHAPITRE I

Hépatite C

1. le foie et les hépatites

1.1. Le foie

Le mot grec pour foie est « hepar » c'est pourquoi les mots médicaux associés au foie commencent souvent par « hépato » ou « hépatique ». Les Grecs considéraient que le foie était le siège des émotions. Ils pratiquaient « l'hépatoscopie » au cours de laquelle on sacrifiait des bœufs ou des chèvres pour examiner leur foie afin de déterminer la réussite ou l'échec de leurs campagnes militaires. Les Grecs considéraient le foie comme l'organe le plus étroitement en contact avec les divinités.

Le foie est l'organe le plus volumineux du corps humain. Il pèse entre 1400 et 1600 grammes et est constitué pour 90 à 95 % de cellules spécifiques, appelées hépatocytes, au nombre d'environ 500 milliards. A tout moment le foie contient environ 10% du sang de votre organisme et il y pompe environ 2016 litres par jour soit 1,4 litre à la minute. C'est un centre de transformation, une station d'épuration, une usine de fabrication et un centre de régulation. (Figure 01)

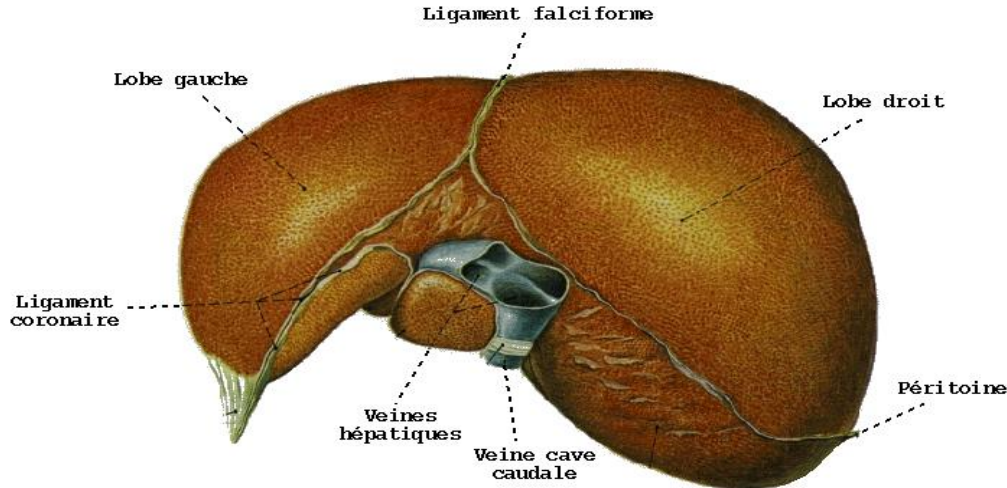


Figure 01 : représentation du foie

1.1.1. Le rôle du foie

Le foie transforme et stocke (en partie) les substances nutritives en provenance des intestins. Ces substances peuvent alors être utilisées par le corps lorsqu'il en a besoin. Le foie contribue aussi à maintenir la glycémie stable. Les substances toxiques (l'alcool, drogues, médicaments, etc.) qui sont ingérées traversent aussi le foie. Pour empêcher qu'elles soient nocives, le foie les décompose et les rejette ensuite dans l'intestin par la bile, ou il les retourne dans le sang afin qu'elles soient filtrées par les reins et éliminées par l'urine.

2. L'hépatite C

En 1970 après l'introduction en routine des tests diagnostiques pour les hépatites A et B, il a été mis en évidence qu'un certain nombre de patients ne présentaient malgré les signes cliniques aucun marqueur d'infection par ces deux virus. A la suite de cette découverte en 1975, Feinstone a avancé l'hypothèse d'une hépatite « non A, non B ». En 1989, grâce à une collaboration entre Houghton et D. Bradley, un clone qui a été identifié par une technique de clonage moléculaire. Ce dernier ayant les caractéristiques d'un nouveau génome viral correspondant au virus de l'hépatite C. Le virus de l'hépatite C est retrouvé dans le sang d'une personne infectée, il peut demeurer environ 5 à 7 semaines à l'air libre. Il existe 6 génotypes d'hépatites C ainsi qu'un grand nombre de sous type. En mars 1990, le dépistage systématique des anticorps anti VHC sur les dons du sang est rendu obligatoire. Cette mesure va diminuer considérablement le risque d'hépatite post transfusionnelle qui était estimé à environ 10%.

2.1. L'Hépatite virale

Les hépatites virales sont secondaires à une infection virale, elles représentent un groupe de maladies du foie caractérisées par une inflammation du parenchyme hépatique. L'hépatite est l'expression clinique de cette infection. Il existe 5 virus hépatotropes : les virus des hépatites: A, B, C, D et E. : les virus des hépatites A à E (hépatites A virus (HAV), hépatites B virus (HBV), hépatites C virus (HCV), hépatites D virus (HDV) et hépatites E virus (HEV)).

Afin d'identifier lequel de ces virus est l'agent causal d'une hépatite, des tests sérologiques sont nécessaires. En effet, bien qu'appartenant à des familles différentes (d'un point de vue classification), tous ces virus induisent une hépatite aigüe. Mais, seuls les virus des hépatites B, C et D (HBV, HCV et HDV) induisent une infection chronique pouvant durer de nombreuses années. Toutefois, chez des patients immunodéprimés, de rares cas d'infections chroniques ont déjà été observés pour le HEV. Une hépatite chronique correspond à une persistance de l'infection virale qui peut entraîner sur le long terme une fibrose pouvant elle-même évoluer en cirrhose ou en carcinome hépatocellulaire. (**Bihlè et Negro, 2009 ; de Niet et al. 2012**).

3. Epidémiologie de l'hépatite C

Selon l'OMS (2004), 170 millions de personnes (soit 3% de la population mondiale) seraient infectées par le VHC dont 80% souffrant d'hépatite C chronique. Le VHC est un virus ubiquitaire mais sa prévalence varie d'une région à une autre, d'un pays à un autre. Dans les pays industrialisés comme l'Australie, le Canada et l'Europe du Nord, la prévalence du VHC est faible et inférieure à 1% (Sy et al. 2006 ; Sherman et al. 2007). Elle est d'environ 1% dans les pays de faible endémicité comme les Etats Unis d'Amérique (Charlton, 2001 ;(Armstrong et al. 2006). En Afrique, la séroprévalence du VHC varie en fonction des zones géographiques. Ainsi, l'Afrique de l'Ouest et l'Afrique centrale paraissent être des zones de haute endémicité avec des prévalences supérieures à 8%. Au nord du continent, la séroprévalence est modérée dans le Maghreb, (**Nicot et al. 1997**). (**Figure 02**), (**tablau01**).

3.1. Prévalence en Algérie

Faute d'études épidémiologiques récentes concernant la population générale algérienne, on ne dispose que des estimations selon lesquelles la séroprévalence du VHC varierait 2,10%, dans le pays en 2014 (**OMS, 2017**). Les wilayas les plus touchées : M'Sila, incidence de 11,60 cas pour habitants. Les deux communes les plus touchées sont M'Sila (37,3% des cas) et Magra (32,8 %). Tamanrasset, le taux d'incidence a chuté, passant de 20,95% à 10,49 % cas pour habitants. Plus de la moitié des cas (59,16 %) ont été notifié dans la commune de Tinzaouatine. La wilaya d'Oum El Bouaki a enregistré un taux

d'incidence de 9,03% cas pour habitants, soit 65 cas au total dont 61,5% ont été notifiés dans la commune d'Oum El Bouaki et 20 % à Aïn M'Lila. A Tébessa, l'incidence enregistrée est de 8,72% cas pour habitants avec 78,5 % des cas notifiés dans la commune de Tébessa (OMS, 2017).



Figure 2 : Taux de prévalence du virus de l'hépatite C par pays. 2011. (Center for control disease and prévention)

Tableau 1: l'estimation de la prévalence de l'infection par le VHC dans le monde par région (OMS, 1999)

Région OMS	Population totale (Millions)	Prévalence de l'hépatite C (%)	Population infectée (Millions)	Nombre de pays sans données épidémiologiques
Afrique	602	5,3	31,9	12
Amérique	785	1,7	13,1	7
Méditerrané orientale	466	4,6	21,3	5
Europe	858	1,0	8,9	19
Asie du Sud	1500	2,2	32,3	3
Pacifique Occidentale	1600	3,9	62,2	11
Total	5811	2,9	169,7	57

4. Modes de transmission

Le virus de l'hépatite C est essentiellement transmissible par contact direct avec le sang humain. Il y a donc une prévalence considérable à l'échelle mondiale chez les personnes 14 transfusées avec du sang non testé, les hémophiles et les toxicomanes qui réutilisent les seringues souillées. La transmission par voie sexuelle est discutée et peu fréquente et serait de l'ordre de 4 à 10 % dans certains groupes à risques (prostituées, personnes à partenaires multiples).

La transmission materno-fœtale représente 3% des cas d'infections mais uniquement chez des mères virémiques. Cependant, certains facteurs de risques liés à la coinfection VIH/VHC seraient à l'origine d'un taux de transmission élevé (**Mastet et al. 2005**).

4.1. La drogue

L'usage de drogue reste le facteur de risque le plus important. Malgré la politique de réduction des risques dès 1987, le risque de transmission du VHC lié à la toxicomanie n'a pas diminué aussi vite que celle du VIH. Cette diminution moindre par rapport au VIH peut s'expliquer par une meilleure résistance du VHC en dehors du milieu biologique ainsi que par une plus forte contagiosité. (**Jauffret et al., 2006**).

La mise à disposition des Stéribox (petit kit comportant le petit matériel de préparation stérile) dans les officines permet une diminution des risques de contamination entre utilisateurs. Le plus important bien sûr reste la sensibilisation de cette population aux risques de transmission de maladie par voie IV afin que leur comportement évolue. (**Jauffret et al., 2006**)

4.2. Transfusion de Produits sanguins

Elle a été l'une des premières causes reconnues, elle a joué un rôle prépondérant dans la diffusion de l'infection jusque dans les années 1990. Le nombre de sujets infectés par voie transfusionnelle au cours des dernières décennies a été estimé entre 100 000 et 400 000 personnes. La contamination était due aussi bien aux transfusions de sang venant d'un donneur unique, qu'aux produits stables (médicaments dérivés du sang) obtenus à partir de multiples donneurs. Le risque transfusionnel était lié à plusieurs facteurs :

*la prévalence du VHC chez les donneurs

*la date de transfusion

*le nombre et types de produits transfusés Par exemple chez les personnes hémophiles ayant reçu avant 1990 de nombreux médicaments dérivés du sang le risque est nettement supérieur que chez une personne ayant reçu avant 1990 une unique transfusion de sang provenant d'un donneur unique. (Marcellin *et al.*, 2008).

4.3. Transmission Nosocomiale et iatrogène

Du fait d'un renforcement des méthodes d'asepsie la transmission du VHC est en nette diminution. Pourtant cette dernière a joué un rôle important bien que difficile à évaluer dans les années 1950-1970. A cette époque le matériel à usage unique n'existait pas et les méthodes de stérilisation et de désinfection étaient inefficaces pour éliminer le VHC. De même les chirurgies invasives peuvent être une cause de transmission du VHC, en particulier lors d'une biopsie. On observe une augmentation du risque d'infection proportionnel au temps de l'anesthésie d'autant plus lorsque le même flacon d'anesthésique est utilisé pour plusieurs malades. L'exposition nosocomiale reste suspectée chez 26% des femmes et chez 17% des hommes nouvellement pris en charge. De rares cas de transmission médecins patients ont été rapportées, ces dernières ont lieu lors d'interventions chirurgicales sanglantes qu'elles soient cardiothoraciques, orthopédiques ou gynécologiques. Ce risque reste néanmoins exceptionnel estimé à 0.04%. La transmission iatrogène liée à des actes comme le tatouage ou le piercing reste possible mais elle est difficile à prouver. Une étude italienne a noté une relation entre l'hépatite C et le tatouage, 11.5% des sujets de 15 à 55 ans infectés par l'hépatite C, non transfusés et non usagers de drogues auraient été contaminés lors du tatouage. (Marcellin, Asslah 2008)

4.4. Exposition professionnelle

L'exposition professionnelle liée à une blessure accidentelle avec du matériel souillé tel que des aiguilles reste un risque de transmission mineur. Le risque a été estimé à seulement 1.8% après exposition au sang d'un patient contaminé, ce dernier augmente avec la charge virale du patient. Même si ce risque a toujours été faible il continue de diminuer depuis ces dix dernières années.

4.5. Transmission de la mère à l'enfant

Le risque de transmission du VHC de la mère à l'enfant est rare, inférieur à 5%. Il dépend essentiellement de la charge virale chez la mère. En présence d'une co-infection avec le VIH le risque est beaucoup plus élevé il passe de 5% à 20%, bien que ce risque semble diminuer depuis que les mères porteuses du VHC et VIH sont sous traitement antirétroviral efficace. La contamination du nouveau-né semble survenir le plus souvent au moment de l'accouchement. Cette dernière est favorisée lors d'un accouchement long et difficile avec une rupture prolongée des membranes. La césarienne ne semble pas diminuer le risque de transmission du virus, l'allaitement lui est autorisé car il ne semble pas y avoir de risque de transmission du virus via le lait. (WHO, 2005).

4.6. Transmission familiale

La transmission familiale entre sujets habitant sous le même toit est très rare et elle est le plus souvent liée au partage d'objets courants, en particulier objets de toilette (rasoir, brosse à dent, coupe ongle, pince à épiler) ou objets usuels (aiguilles de couture, outils) ayant pu être en contact avec le sang de la personne infectée par le virus C. Ce mode de transmission est favorisé par une proximité forte et des conditions d'hygiène insuffisantes.

4.7. Transmission par voie sexuelle

La transmission entre partenaires sexuels est plus élevée chez les couples séropositifs. L'ARN du VHC est présent dans le sang des menstruations chez les femmes infectées, mais il n'est pas retrouvé dans les sécrétions vaginales, on le retrouve de manière inconstante dans le sperme à des concentrations infimes 10 à 100 fois plus faibles que dans le plasma. Cette transmission plus fréquente chez les couples homosexuels masculins est due à des rapports anaux traumatiques. Le taux de transmission chez des couples hétérosexuels est de 0.07% on a donc environ une transmission pour 190 000 rapports sexuels non protégés. (Marcellin, Asslah 2008)

5. Evolution de l'hépatite C

L'hépatite C chronique est une maladie fréquente qui concerne plus de 233 000 personnes en France. L'évolution de l'hépatite chronique est fortement influencée par un certain nombre de facteurs. C'est une maladie qui reste grave car elle représente la deuxième cause de cirrhose, de carcinome hépatocellulaire et de transplantation hépatique. Grâce aux progrès considérables qui ont été faits ces dernières années concernant les nouveaux traitements antiviraux on peut espérer que dans quelques années 90% des infections par le VHC pourront être éradiquées chez les patients atteints d'hépatite C aiguë ou chronique. **(Figure03).**

5.1. Hépatite aiguë

Les cas d'hépatite C aiguë restent relativement rares ils ne représentent que 10% des cas d'hépatite aiguë en Europe. L'hépatite C aiguë reste le plus souvent asymptomatique chez la majorité des patients. Dans 20% des cas l'hépatite C est ictérique, mais dans la majorité des cas (80%) l'hépatite est anictérique avec peu ou pas de symptômes. 25 De plus les symptômes pouvant être retrouvés lors de l'hépatite C aiguë ictérique ou non ne sont pas spécifiques. On retrouve principalement une asthénie importante, des nausées, des douleurs de l'hypocondre droit et éventuellement l'apparition d'urine foncée et d'ictère dans le cas d'hépatite ictérique. Les anticorps anti-VHC ne sont eux détectables que dans 50-70% des cas au cours de l'infection aiguë. Les transaminases sont habituellement 10 fois supérieures à la normale. Dans les rares cas de guérison spontanée on observe rapidement une normalisation des transaminases et l'ARN du VHC devient indétectable. **(Pawlotsky et al., 2014).**

5.2. Hépatite chronique

L'hépatite chronique par le VHC est définie par la persistance de l'ARN du VHC 6 mois après l'hépatite aiguë, elle est responsable de 70% des cas d'hépatites chroniques. Le passage à la chronicité est dépendant de certains facteurs. Ce dernier est augmenté avec l'âge, le sexe masculin et le déficit immunitaire. Lors du passage à la chronicité les transaminases peuvent se normaliser ou rester discrètement ou modérément élevées. L'hépatite chronique reste asymptomatique dans la majorité des cas elle n'est détectée le

plus souvent qu'une dizaine d'années plus tard. L'hépatite chronique peut schématiquement se scinder en 3 formes :

- *l'hépatite chronique avec transaminases normales (**Deuffic *et al.* 1999**),
- *l'hépatite chronique minime
- *l'hépatite chronique modérée ou sévère

5.2.1. L'hépatite chronique avec transaminases normales

Environ 25% des malades ont un taux de transaminases normal malgré la persistance de l'ARN viral. Ces malades souvent asymptomatiques voient leur maladie diagnostiquée le plus souvent à la suite d'un don de sang ou d'un bilan biologique systématique. Ils sont plus communément appelés « porteurs sains ou asymptomatiques » ces termes sont incorrects car la majorité des patients présentent des lésions hépatiques, seulement moins de 20% présentent un foie normal. Le score Métavir est employé pour évaluer la gravité d'une hépatite. Il nécessite une biopsie hépatique. Il associe la lettre A (activité) qui est échelonnée de 0 à 3, cela traduit l'activité de l'hépatite (inflammation et nécrose), donc sa rapidité d'évolution. La seconde lettre est la lettre F (fibrose) elle caractérise les lésions fibreuses déjà existantes sur le foie. Elle est graduée de 0 à 4 (absence de fibrose à présence d'une cirrhose). (**Silini *et al.*, 1995 ; Pawlotsky *et al.*, 2014**)

5.2.2. L'hépatite chronique minime

Dans ce groupe de malades, l'ARN viral est détectable et les transaminases sont modérément élevées. Le score Métavir de fibrose est situé entre F0 et F1 et celui de l'activité entre A0 et A1. C'est la forme la plus fréquente chez les femmes et chez les malades jeunes. Les symptômes sont non spécifiques, on retrouve une asthénie, des nausées, une anorexie, un prurit ou un amaigrissement, beaucoup de patients sont également asymptomatiques. L'importance de l'asthénie est variable d'un patient à l'autre et ne peut être corrélée avec la gravité de l'hépatite ou des lésions. L'hépatite chronique C évoluant lentement chez ce groupe de patients, le risque de cirrhose est donc minime. (**Takahashi *et al.*, 1993**).

5.2.3. L'hépatite chronique modérée ou sévère

Ce groupe se définit par le résultat de la biopsie hépatique avec le score Métavir : les scores de fibrose et d'activité varient entre F2 et F4 et entre A2 et A3. Les patients de ce groupe sont souvent difficiles à distinguer avec le groupe de patients ayant une hépatite C minime car malgré les atteintes hépatiques plus sévères les malades sont la plupart du temps asymptomatiques ou possèdent des symptômes similaires aux patients ayant une hépatite minime. Néanmoins on peut également retrouver chez ces patients des douleurs articulaires ou musculaires ou encore des troubles psychologiques (anxiété, dépression...) non corrélés à la sévérité de la maladie. Cette forme d'hépatite est plus fréquemment retrouvée et progresse plus rapidement chez les personnes âgées, chez les hommes et chez les malades consommant régulièrement de l'alcool ou possédant un déficit immunitaire. (**Alter et al., 2000**).

5.3. Cirrhose

La cirrhose se caractérise par une inflammation chronique due au virus de l'hépatite C qui entraîne la destruction des cellules hépatiques et leur régénération anarchique sous forme de nodules. Elle se définit par un score Métavir de A3F4 ce qui correspond au stade ultime de la fibrose hépatique. La maladie conduit à la perte des fonctions de l'organe et s'accompagne de multiples complications responsables de la morbidité et de la mortalité de la maladie. La cirrhose provoque une hypertension portale entraînant l'apparition de varices œsophagiennes, la rupture de ces dernières pouvant entraîner une hémorragie digestive grave voire mortelle. (**Marcellin et al., 2008**).

5.4. Carcinome hépatocellulaire

La cirrhose est un facteur de risque important de CHC du fait de l'augmentation de la prolifération cellulaire due à la nécrose et à la régénération importante dans le contexte d'inflammation et de stress oxydatif. C'est cet environnement qui va faciliter l'apparition d'altérations génétiques et épigénétiques responsables de l'apparition des tumeurs. Le carcinome hépatocellulaire est exceptionnel en l'absence de cirrhose (moins de 10%), par contre en cas de cirrhose liée au virus de l'hépatite C l'incidence du carcinome hépatocellulaire est de l'ordre de 2 à 4% par an. Le CHC est la plus fréquente tumeur

maligne et primitive du foie, c'est le cinquième cancer mondial. Les facteurs indépendants du malade associés à une progression plus rapide du CHC sont l'âge avancé au moment du diagnostic et le sexe masculin. La co-infection avec le VIH augmenterait de 4 à 6 fois le risque d'apparition d'un CHC, de plus il semble apparaître après une période de contamination plus courte et donc chez des patients plus jeunes comparé aux malades qui ne sont pas co-infectés. La consommation régulière de plus de 70g d'alcool journalier double le risque de CHC.

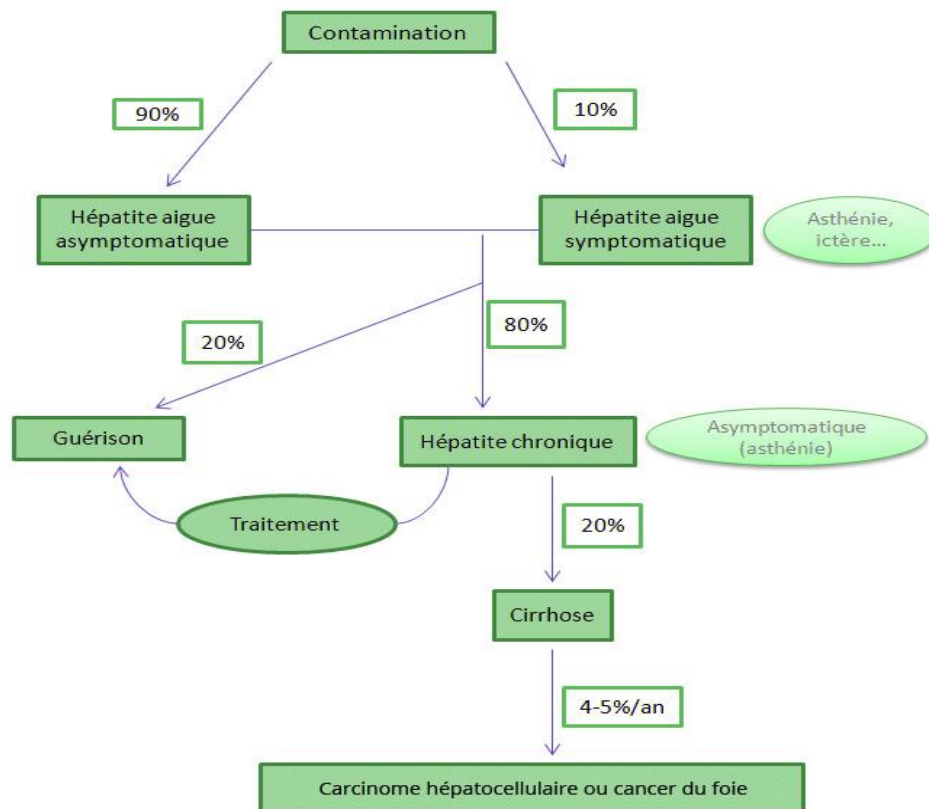


Figure 03:Schéma représente Evolution de l'hépatite C

6. Aspects cliniques

Le VHC est responsable de lésions hépatiques. L'hépatite survient après une incubation moyenne de 6 semaines. La durée de l'incubation semble être influencée par le mode de

contamination qui détermine la quantité de l'inoculum viral. L'évolution d'une hépatite C virale se fait le plus souvent vers une infection chronique. L'hépatite C chronique est en générale asymptomatique et est caractérisée par la persistance d'une élévation des transaminases hépatiques et des lésions hépatiques à des degrés variables. La cirrhose est une maladie chronique au cours de laquelle le foie se couvre de tissu fibreux, ce qui provoque la décomposition progressive du tissu hépatique qui se remplit de 15 tissus gras. Elle peut évoluer pour donner un hépatocarcinome, qui est un cancer primitif du foie. (Marcellin *et al.*, 2008).

6.1. Les transaminases

Les transaminases sont des enzymes ayant une activité métabolique importante à l'intérieur des cellules. Leur augmentation reflète une lésion cellulaire, en particulier au niveau hépatique, cardiaque, rénal ou musculaire. Les transaminases les plus abondantes dans le foie sont la TGO et la TGP. Quand les hépatocytes (cellules du foie) sont détruits, ils libèrent une partie de leur contenu dans le sang, ce qui provoque une augmentation des transaminases, proportionnelle à l'intensité de l'agression. L'élévation des transaminases est importante en cas d'hépatite aiguë (plus de 10 fois la norme) et plus modérée en cas d'épisode chronique (en général 2 à 5 fois la norme). La norme correspond à la destruction normale des hépatocytes qui meurent et sont renouvelés. (Henderson, *et al.* 2003).

7. Réactions immunitaires et mécanismes d'échappement du virus

La réponse immunitaire non spécifique (réactions inflammatoires entre autres) est responsable des premières réactions immunes et implique les cellules NK (Natural Killer), les macrophages et les granulocytes. La réponse spécifique implique les lymphocytes T (CD4+ et CD8+), activés via les cellules présentatrices d'antigène (CPA) comme les macrophages ou les cellules dendritiques. (Marcellin *et al.*, 2008).

7.1 La réponse cellulaire

Elle est assurée par les lymphocytes T4 (CD4+) ou T helper (Th) et les lymphocytes T8 (CD8+) ou cytotoxiques (CTL). Les lymphocytes T4 sont stimulés de manière spécifique par des peptides viraux, présentés en association au complexe majeur d'histocompatibilité

de type 2 (CMH II) par les CPA (cellules présentatrices d'antigènes). Ils ont essentiellement un rôle régulateur par la sécrétion de cytokines (IL2 et IFN pour la sous-population Th1 et IL4 et IL10 pour la sous population Th2) qui permettent la stimulation et la prolifération des lymphocytes B (Th2) et des lymphocytes T8 (Th1). Dans le sang circulant, les lymphocytes CD4+ sont fortement stimulés lors de la phase aiguë de l'infection (plus d'un mois après l'apparition de la virémie) et dirigés contre un large spectre d'antigènes du VHC, mais répondent plus fortement aux 16 protéines non structurales (**Braitstein et al. 2005**). Durant la phase chronique, la réponse s'affaiblit et semble être stimulée essentiellement par les protéines structurales. De manière générale, une forte stimulation de la sous-population Th1, multi-spécifique et persistante dans le temps entraîne l'éradication du virus de l'organisme. Les lymphocytes CD8+ sont stimulés par la reconnaissance du peptide associé au CMH I via les CPA ou les cellules infectées (hépatocytes) et ont pour rôle de détruire ces dernières. De la même manière que pour les lymphocytes CD4+, la stimulation des CTL dans le sang circulant est très importante et multi-spécifique lors de la phase aiguë et s'estompe lorsque le virus persiste dans l'organisme. Le phénomène de compartimentation hépatique de la réplication virale au moment de la chronicité permet de mettre en évidence une stimulation active de la réponse cellulaire (Th1 et T8). Cette activité immunitaire serait à l'origine des lésions hépatiques de degrés divers, caractéristiques de la persistance virale (**Henderson, et al. 2003**).

7.2 La réponse humorale

Les anticorps apparaissent en moyenne 14 à 18 semaines après l'infection et sont dirigés contre la plupart des protéines virales. La réponse est toujours forte et stable vis-à-vis de la capside et de NS3. Cette réponse persiste après l'élimination virale puis disparaît progressivement. La région HVR1 en position N-terminale de la glycoprotéine d'enveloppe E2 est l'antigène viral le plus apte à induire la synthèse d'anticorps neutralisants (**Henderson et al. 2003**).

7.3 Les mécanismes d'échappement du virus

Pour échapper à la pression immunitaire de l'hôte, le VHC utilise un certain nombre de stratégies comme la régulation de gènes cellulaires et viraux, l'interférence de diverses

voies de signalisation ou encore l'utilisation de leurres antigéniques. Mais un des mécanismes les plus étudiés est sans doute l'échappement associé au polymorphisme viral. Outre le fait que certains génotypes soient plus souvent impliqués dans les cas d'infections chroniques (génotype 1 à 95%) que d'autres, il a souvent été démontré que la répartition de la population virale en quasi-espèces au sein d'un organisme pouvait être le résultat d'une stratégie employée par le virus pour échapper aux anticorps neutralisants de l'hôte. La région HVR1, définie comme l'antigène viral majeur impliqué dans la neutralisation, a déjà été proposée comme candidate à l'échappement immunitaire du fait de sa grande variabilité (Pawlotsky, 2002).

8. Techniques de diagnostic du VHC

Le diagnostic des infections par le VHC repose sur deux types de tests : les tests indirects, qui mettent en évidence les anticorps dirigés spécifiquement contre le virus, et les tests directs fondés sur les techniques de biologies moléculaires, qui mettent en évidence les constituants de la particule virale.

8.1. Les tests indirects ou sérologiques

Les tests sérologiques sont des tests immuno-enzymatiques de type ELISA (enzyme linked-immuno-sorbent-assay). Ils utilisent des protéines recombinantes ou des peptides synthétiques viraux, codés à la fois par les régions structurales (capside, enveloppe) et les régions non structurales (NS3, NS4 et NS5) du génome viral.

8.1.1. Test ELISA

C'est un test immuno-enzymatique ELISA de troisième génération la spécificité est excellente de l'ordre de 99% et la sensibilité est en moyenne de 98% chez les patients porteurs du virus de l'hépatite C. Les tests de première et de deuxième génération ne sont plus commercialisés en France, la sensibilité des tests de troisième génération est satisfaisante chez les hémodialysés et les personnes Coinfectées par le VIH en dehors d'immunodépression. Dans le cas d'une immunodépression sévère le test peut apparaître faussement négatif, de même au tout début de l'infection par le VHC.

8.1.2. Les TROD : tests rapides d'orientation diagnostique

On appelle « test rapide d'orientation diagnostique (**TROD**) », un test unitaire, à lecture subjective, de réalisation simple et conçu pour donner un résultat dans un délai court (moins de 30 minutes généralement) lorsqu'il est pratiqué auprès du patient. Il peut être réalisé sur sang total, salive, plasma ou sérum en fonction de la (les) matrice(s) revendiquée(s) par le fabricant pour son produit (**Carrère et al, 2004 ; Jopling et al, 2005**) Les **TROD** ont un principe simple, le test consiste en la capture d'antigènes ou d'anticorps sur une surface solide. Une fois les anticorps piégés on rajoute des peptides synthétiques ou dans le cas des antigènes on rajoutera des immunoglobulines spécifiques. L'interaction entre les analystes et leurs immunoglobulines ou peptides entrainera généralement un trait de couleur permettant une détection à l'œil nu (**Thomas et al, 1995**).

Tableau 2 : Avantages et inconvénients des systèmes de dépistage des anticorps anti-VHC (Pascal Merlin 2010)

	Avantages	Inconvénients
Test ELISA	<ul style="list-style-type: none"> Très grande sensibilité et excellente spécificité -Réalizable à basse T° 37° -Automatisable - bonne traçabilité (enregistrement automatique des résultats) 	<ul style="list-style-type: none"> -nécessité de chaine de froid -nécessite l'achat de matériel : centrifugeuse, automate, spectrophotomètre
TROD	<ul style="list-style-type: none"> Mobilité du test -Utilisation de matrices autres que le sang ou le plasma : indolore, non invasif -Facilité d'utilisation -Stockage à T ambiante -Spécificité et Sensibilité satisfaisantes 	<ul style="list-style-type: none"> -Prix élevé -Problème d'élimination des déchets infectieux -Absence de traçabilité -Lecture subjective

8.2. Les techniques de biologie moléculaire

Les techniques de biologie moléculaire appliquées au diagnostic des infections par le VHC peuvent être classées en trois catégories : les méthodes de détection de l'ARN du VHC, les méthodes de quantification de l'ARN et les méthodes de génotypage.

8.2.1. Détection qualitative de l'ARN du VHC

L'ARN du VHC est présent en quantités trop faibles dans le sérum et les tissus pour être détecté par les techniques d'hybridation classiques. Une étape d'amplification préalable est nécessaire. Les techniques dites d'amplification de la cible, permettent de fabriquer après transcription inverse de l'ARN viral en ADN complémentaire et grâce à une réaction enzymatique, un grand nombre de copies (ADN doubles-brins au cours de la polymérase Chain réaction ou PCR, ARN simples-brins au cours de la transcription médiate amplification ou TMA.), qui deviennent visibles soit par électrophorèse et coloration spécifique de l'ADN, soit par hybridation spécifique sur microplaques. Les techniques de PCR qualitative sont aujourd'hui les plus sensibles pour la détection de l'ARN du VHC.

8.2.2. Quantification de l'ARN du VHC

La quantification de l'ARN du VHC (ou mesure de la charge virale) mesure le niveau de répllication virale dans l'organisme. Elle repose sur deux types de techniques : les techniques d'amplification de la cible (PCR ou TMA) et les techniques d'amplification du signal. La quantification par amplification de la cible se fait le plus souvent par une technique compétitive, où un standard interne en quantité connue est ajouté à l'échantillon, extrait et reverse transcrit en parallèle avec l'ARN viral, puis amplifié en compétition avec celui-ci. La comparaison des résultats de la cible (ARN viral) et du standard, permet la quantification. De nouvelles techniques fondées sur l'amplification en temps réel (real time PCR) sont en cours de développement. Ces techniques bénéficient d'une sensibilité, d'une spécificité et d'un intervalle de quantification linéaire accrus. Les techniques d'amplification du signal ont pour objectif, après hybridation de l'ARN viral à un support solide, de fixer sur cet ARN, un grand nombre de molécules « signal » (enzymes). Ces enzymes catalysent la transformation d'un substrat en un composé détectable. La quantité de composé produite est comparée à une courbe étalon, tracée en parallèle avec des standards en quantités connues et permet la quantification. Les avantages de cette méthode sont sa spécificité et sa reproductibilité. Elle quantifie de façon équivalente les différents génotypes du VHC. Le génotypage du VHC permet en particulier l'étude de sa variabilité génétique. Les techniques de génotypage sont fondées sur une

amplification initiale par PCR. En routine, on peut utiliser les techniques d'analyse du polymorphisme de restriction des fragments amplifiés (restriction fragments length polymorphisme analysis ou RFLP) ou des techniques standardisées d'hybridation inverse, fondées sur l'utilisation de sondes Oligo nucléotidiques spécifiques des différents génotypes et sous-type du VHC. (Thomas *et al*, 1995).

9. Traitement de l'hépatite C

9.1. Evolution du traitement dans le temps

Depuis la découverte du VHC en 1989 les traitements ont évolué de manière considérable permettant ainsi d'augmenter le nombre d'éradications post médicamenteuses de l'hépatite C. Au début des années 1990 le traitement reposait sur l'utilisation d'interféron \pm qui permettait d'obtenir à peine plus de 20% de réponse virologique prolongée. Ont montré l'intérêt de la bithérapie associant l'interféron et la Ribavirine permettant ainsi de doubler le pourcentage de réponse virologique prolongée. Une étude réalisée en 2001 a mis en évidence que le Peg IFN \pm était plus efficace que l'interféron \pm seul. (Dhumeaux *et al.*, 2014)

Depuis 2011 on retrouve sur le marché les premiers inhibiteurs de la protéase du VHC, le Telaprevir et le Boceprevir. Ces molécules sont alors utilisées sous forme d'une trithérapie en association avec l'interféron pégylé et la Ribavirine. (Leroy *et al.*, 2016)

Une nouvelle génération d'antiviraux d'action directe a vu le jour depuis 2014, on retrouve l'anti protéases, les anti-polymérase, les anti-NS5A...ces molécules agissent en inhibant certaines étapes du cycle viral empêchant ainsi la production de particules virales par les hépatocytes infectés. (Dhumeaux *et al.*, 2014 ; Leroy *et al.*, 2016)

CHAPITRE II
VIROLOGIE

10. Découverte du virus de l'hépatite C

En 1974, des tests sérologiques furent développés pour détecter la présence du virus de l'hépatite A (VHA) ou de l'hépatite B (VHB) chez les patients atteints d'hépatite. L'année suivante, Feinstone et son équipe testèrent la présence d'anticorps dirigés contre divers virus dans le sang de patients ayant contracté une hépatite après transfusion. Il s'avéra que certains patients ne produisaient pas d'anticorps dirigés ni contre les virus des hépatites A (VHA) ou B (VHB), ni contre le Virus Epstein Barr (VEB). Ils mirent donc en évidence l'existence d'un ou de plusieurs nouveaux agents inconnus causant des hépatites, baptisés « Hépatites Non A Non B » ou « HNANB » (**Feinstone et al. 1975**). L'avancée majeure fut la caractérisation du génome du virus en 1989 par Choo et son équipe (Choo et al. 1989) grâce aux techniques de biologie moléculaire. Ils utilisèrent du sérum de chimpanzés infectés par l'agent causal des « HNANB » pour produire une large banque d'ADNc qui fut clonée dans un bactériophage λ gt11. Cette banque d'expression fut alors criblée par des sérums de patients humains atteints de « HNANB ». Les auteurs isolèrent le clone 5.1.1, codant un antigène reconnu par les sérums de plusieurs patients. Par ailleurs, Choo et son équipe montrèrent que l'ADNc correspondant ne dérivait pas d'un ARN codé par le génome de primate, démontrant ainsi son origine virale. L'agent causal des « HNANB » ainsi identifié, prit alors le nom de VHC (Virus de l'hépatite C). À la cour de la même année, Kuo et al (1989) misent au point un test ELISA pour détecter la présence du VHC chez des patients CHAPITRE I Hépatite C 4 et montrèrent que ce virus était la principale cause des « HNANB » transfusionnelles à travers le monde (**Kuo et al.1989**). (**Figure 04**)

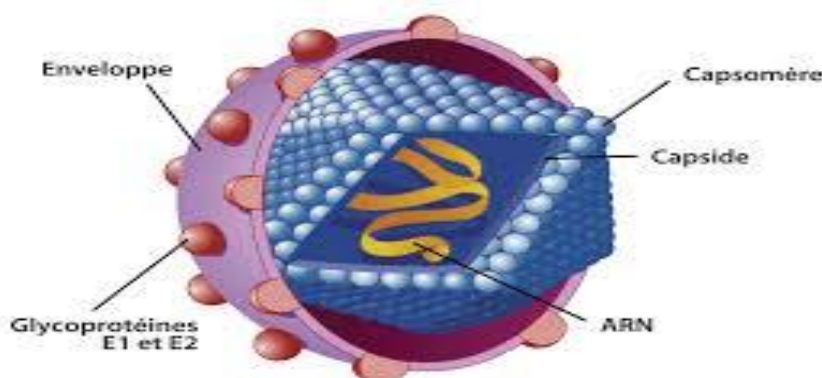


Figure 04 : représentation schématique de VHC

10.1. Organisation du génome

Le génome du VHC est constitué d'un ARN monocaténaire, de polarité positive, d'une taille de 9600 nucléotides environ. Les régions non codantes (NC) situées aux extrémités 5' et 3' du génome encadrent une phase de lecture unique qui code une polyprotéine de 3000 acides animés environ (Paul et Dominique, 2003). (Figure05)

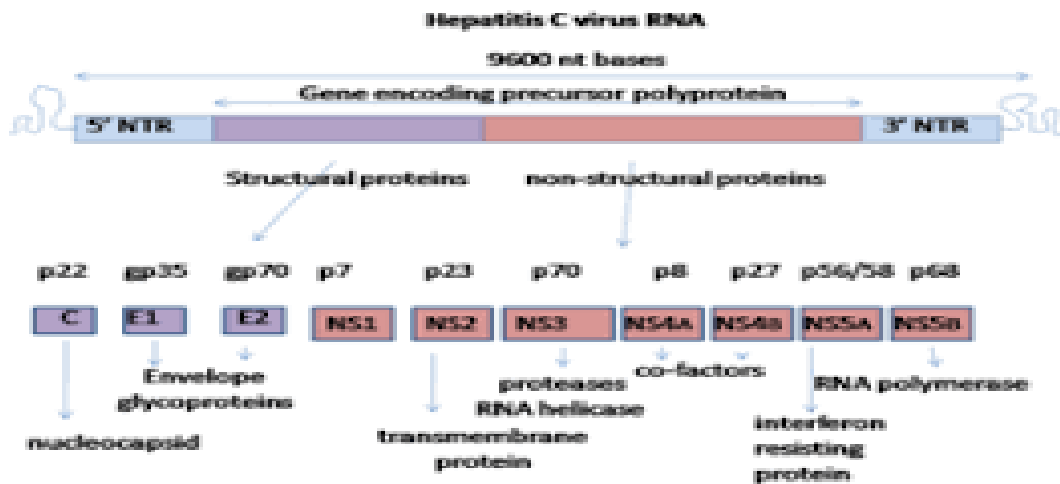


Figure 05 : L'organisation génomique de VHC

10.2. Caractéristiques et classification

Le virus de l'hépatite C appartient à la famille des Flaviviridae et au genre hépacivirus (Lemon et al. 2007 ; Choo et al. 1991). La famille des Flaviviridae est constituée de virus enveloppés, sphériques, d'environ 40-50 nm de diamètre, dont le génome est formé d'ARN linéaire simple brin de 10 à 12kb. Cette famille regroupe trois genres (Flavivirus, Pestivirus, Hépacivirus).

* **Flavivirus** : fièvre jaune, encéphalite, la dengue...

* **Pestivirus** : fièvre porcine, diarrhée virale bovine...

* **Hepacivirus** : VHC

Le virus de la fièvre jaune, premier virus connu de cette famille, lui a donné son nom (du latin flavus, jaune). Les Flaviviridae les plus importants en termes de santé publique sont le virus de la fièvre jaune, de la dengue, de l'encéphalite japonaise, le virus West Nile

et le virus de l'Hépatite C. Les Flaviviridae se transmettent par des vecteurs arthropodes (essentiellement tiques et moustiques) à l'exception du virus de l'Hépatite C qui se transmet par voie sanguine.

Le VHC est un virus au tropisme restreint, infectant essentiellement les hépatocytes (**Huang *et al.* 2007**) ; Molina *et al.* 2007 ; Flint *et al.* 2006) mais retrouvé également dans les cellules dendritiques (**Cosset, 2006**) et dans les cellules mononuclées du sang (**Moenne *et al.* 2010 ; Navas *et al.* 1998**).

10.3. Structure

Le VHC est un virus composé d'un génome à ARN monocaténaire de polarité positive de 9.6kb qui code pour une polyprotéine de 3000 acides aminés. Le génome est contenu dans une capsidie icosaédrique qui est elle-même entourée d'une enveloppe lipidique d'origine cellulaire. Des glycoprotéines d'enveloppe E1 et E2 sont ancrées au niveau de l'enveloppe virale. Ce petit virus enveloppé à un diamètre de 55-65nm, sa densité est variable ; on explique cette variabilité par l'association du virus avec des lipoprotéines de densité différente. La circulation du VHC pourrait se faire sous forme de nucléocapsides non enveloppées, leurs rôles restent encore inconnus. Le nombre de particules du VHC est faible ce qui rend leur visualisation directe difficile par microscopie électronique.

Le VHC appartient à la famille des Flaviviridae et au genre hépacivirus. (Bartenschlager et Lohmann, 2000). L'absence de systèmes cellulaires capable de répliquer efficacement le virus *in vitro* rend difficile, l'étude de ce virus. Sa structure a été déduite en grande partie de celle des flavi et pesti virus, autres virus de la famille des Flaviviridae et ses protéines ont été obtenues par des expériences de transcription, traduction et expression d'ADNc dans des cellules eucaryotes ou procaryotes (**Chooq *et al.* 1989**).

11. Le Génome

Le génome du HCV est une molécule d'ARN simple brin positif de 9.6 kb, qui après l'entrée du virion dans la cellule est reconnu comme un ARN messenger et traduit par la machinerie cellulaire de l'hôte pour former une poly protéine précurseur d'environ 3 000 acides aminés (AA) (Penin, 2004b). La poly protéine subit l'action d'enzymes cellulaires et virales au niveau de la membrane du réticulum endoplasmique (RE) pour donner naissance à 10 protéines virales :

(1) les protéines structurales à savoir la protéine de capsid ou protéine C, les protéines d'enveloppe E1 et E2-NS1

(2) les protéines non structurales NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A et NS5B (Moradpour, 2007). Un système de numérotation de la séquence nucléotidique et en AA a été proposé sur la base de la séquence du génome complet de l'isolat H77 (numéro d'accès : AF0099606) (Kuiken, 2006). (Figure 06).



Figure06 : Génotype du HCV (Mammette *et al*, 2002)

11.1. Site interne d'entrée du ribosome la région 5'

L'extrémité 5' non codante a une séquence de 342 nucléotides dépourvu de coiffe méthyle, elle reste très conservée au sein des différents génotypes. Elle a un rôle dans la régulation des fonctions virales et est impliquée dans le processus d'initiation de la traduction. Cette région a la capacité de lier les ribosomes en région 5' terminale. Le site d'entrée du ribosome est une structure complexe composée de 8 boucles en épingle à cheveux qui lie les facteurs de l'hôte. Ce site interne d'entrée du ribosome appelé IRES forme un complexe avec la petite sous unité ribosomale 40S et les facteurs de traductions essentiels à la production des protéines virales. L'IRES recouvre la région NC 5' ainsi qu'une petite partie de la région codant la protéine C (région structurale), ce dernier est indispensable à la transcription coiffe dépendante de l'ARN viral. Un micro ARN (miR-122) exprimé dans les hépatocytes permettrait de faciliter en culture cellulaire la réplication de l'ARN du VHC en interagissant avec la région 5'NTR. (Henke *et al*, 2008 ; Roberts *et al*, 2011)

11.2. Région codant les protéines virales

La région 5' non codante est suivie par le cadre de lecture ouvert, ce dernier débute par le codon AUG initiateur de la traduction. Cette région code les protéines structurales, elle comporte 3 gènes distincts, ce grand cadre de lecture ouvert (ORF) se situe à la suite de la région 5'NC. Sa traduction conduit à la synthèse d'une polyprotéine qui sera ensuite clivée sous l'action des protéases cellulaires et virales. Ce clivage va donner naissance aux protéines virales structurales (E1, E2, Protéine C) et non structurales (NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A et NS5B), p7 et la protéine F. La plupart de ces protéines ont un rôle dans la persistance virale et la pathogénèse ainsi que dans la réplication et l'assemblage du virus, elles sont dites multifonctionnelles. Le gène C code pour la protéine de capsid ou protéine core. Les gènes d'enveloppe E1 et E2 codent pour les glycoprotéines transmembranaires de l'enveloppe virale. (**Grakoui *et al.*, 1993 ; Pawlotsky, 2002**)

11.3. Région 3' non codante

Cette région est située à la suite du codon stop du cadre de lecture ouvert. Elle comporte trois régions successives. Une première région variable non traduite d'environ 30 nucléotides. La deuxième région est un enchaînement de U/C de longueur variable, enfin la dernière région 3' terminale est très conservée elle comporte 98 nucléotides repliés en trois tiges boucles successives. Cette région est impliquée dans l'initiation de la synthèse du brin d'ARN négatif au cours de la réplication, elle fixe également une protéine impliquée dans l'initiation de la traduction. (**Song *et al.*, 2006**)

12. Les protéines virales

12.1. Structurales

12.1.1. Protéine de capsid

La protéine de capsid ou protéine C ou protéine core est une phosphoprotéine basique de 21kDa mais il existe un précurseur de 23kDa. Elle prend naissance à partir de la poly protéine virale grâce au clivage des protéases cellulaires au niveau de l'acide aminé 191. Sa fonction principale est de former la nucléocapsid virale après assemblage du virion. Elle est retrouvée dans un grand nombre de systèmes bactériens et eucaryotes, c'est une petite protéine basique composée de 191 acides aminés sous sa forme immature et 179 sous sa forme mature. La forme immature interagit avec la forme mature au niveau du cytoplasme et ainsi régule sa localisation au niveau cellulaire. Elle est composée de régions hydrophobes, notamment la région allant de l'acide aminé 174 à 191. Cette dernière est associée à des gouttelettes lipidiques dans le cytoplasme cellulaire, ce qui induit une

accumulation lipidique intracellulaire. Cette accumulation a un rôle probable dans l'induction de la stéatose hépatocytaire, il est également probable qu'elle ait un rôle de signal dans la localisation nucléaire. La protéine C mature ou immature est phosphorylée par la protéine kinase A ou la protéine kinase C au niveau des sérines. Les sérines 99 et 116 représentent les sites de phosphorylation majeurs de la protéine de capsid, ces sites jouent un rôle dans la localisation du noyau. Cette protéine appelée aussi protéine core a la faculté d'activer l'apoptose en se fixant au récepteur de la lymphotoxine. Une stéatose hépatique a également été observée chez le chimpanzé suite à la liaison de cette protéine avec l'apolipoprotéine A2. De plus, cette protéine joue un rôle dans l'assemblage des virions et la libération du virus et également lors de l'entrée dans la cellule pour le désassemblage des particules virales. (**Gordien *et al*, 2003**).

12.1.2. Protéines d'enveloppe

Les glycoprotéines d'enveloppe E1 (= gp31) et E2 (=gp70) caractérisées par un poids moléculaire de 31kDa et 70kDa, sont très hautement glycosylées. Ces protéines résultent du clivage de la polyprotéine par des signal-peptidases retrouvées en position 383 et 746, ces glycoprotéines transmembranaires sont composées de régions hypervariables. Trois régions hypervariables sont retrouvées dans la séquence E2, HVR1, HVR2 et HVR3. La région HVR1 a un rôle dans l'attachement du virus à la cellule, elle est très conservée et est reconnue en tant que cible par le système immunitaire. E1 et E2 participent à l'entrée du VHC dans la cellule, elles se fixent aux récepteurs cellulaires et entraînent la fusion de l'enveloppe virale avec les membranes cellulaires de l'hôte. Les protéines d'enveloppe interagissent avec le récepteur du virus de l'hépatite C, la protéine CD81 ayant été identifiée comme étant le récepteur du virus interagit avec la glycoprotéine E2. L'entrée du virus dans l'hépatocyte est due en partie à l'interaction de la protéine E2 avec la boucle extracellulaire du CD81. Elles participent également à la régulation virale en se fixant à d'autres protéines virales. (**Roussel *et al.*, 1984**).

12.2. Protéines Non structurales

12.2.1. NS2

Cette protéine transmembranaire de 23kDa est retrouvée au niveau du réticulum endoplasmique. Il semblerait qu'elle soit impliquée dans la phosphorylation de NS5A. La

protéine NS2 couplée avec le domaine N-terminal de NS3 forme une métallo protéinase Zn dépendante composée de résidus Cys et His au niveau du site actif. C'est cette métallo protéase qui est responsable du clivage entre NS2/NS3. **(Bartenschlager et Lohmann, 2000).**

12.2.2. NS3

C'est une protéine de 70kDa composée de deux domaines, une protéase N-terminale et une alpha-hélicase de type 2 C terminale. Le premier domaine possède une activité sérine protéase et le deuxième domaine possède une activité NTPase et hélicase dépendante de l'ARN. L'activité sérine protéase n'est possible que si NS3 se lie avec son cofacteur NS4A, on a alors clivage en cis de la jonction NS3/NS4A et en trans des jonctions NS4A/NS4B, NS4B/NS5A et NS5A/NS5B. Le deuxième domaine est essentiel pour la traduction et la réplication du génome viral. L'hydrolyse des nucléosides triphosphates fournit l'énergie nécessaire à l'hélicase pour séparer les doubles brins de l'ARN, c'est grâce à cette séparation que le génome devient accessible aux enzymes virales et cellulaires. NS3 serait également impliqué dans la formation des particules virales intracellulaires. L'hélicase a un rôle de régulation de la transduction du signal, elle influence également la survie et la prolifération de la cellule hôte. Par conséquent, NS3 est la cible de nombreux antiviraux en lien avec ses nombreuses interactions hôte-pathogène. **(Bartenschlager et Lohmann, 2000).**

12.2.3. NS4A

C'est une protéine transmembranaire de poids moléculaire de 8kDa, localisée sur la polyprotéine entre les acides aminés 1658 et 1711. Sa seule fonction connue actuellement est son rôle de cofacteur pour la protéine NS3 **(Phan *et al*, 2011 ; Kohlway *et al*, 2014)**

12.2.4. NS4B

La protéine NS4B est une protéine hydrophobe de 260 acides aminés son poids moléculaire est de 27kDa. C'est une protéine transmembranaire intégrale localisée dans la paroi du réticulum endoplasmique et orientée vers le cytoplasme. La fonction de cette protéine est mal connue il semblerait qu'elle participe à la formation de complexes membranaires supportant la réplication virale appelés « complexes de réplication ». Il semblerait que cette protéine interagisse en inhibant la synthèse de certaines protéines de

l'hôte et en collaborant avec des oncogènes dans la transformation cellulaire. (**Romero *et al.*, 2012**)

12.2.5. NS5A

C'est une protéine modérément hydrophile de 56-58kDa sa phosphorylation est variable. La phosphorylation survient après le clivage protéolytique de NS5A par la sérine protéase NS3/NS4A. Elle est associée à une sérine/thréonine kinase cellulaire. La NS5A code pour une région déterminant la sensibilité à l'interféron présent dans les souches sauvages VHC des génotypes 1b ou 2(**Lan *et al.*, 2002**)

12.2.6. NS5B

C'est une protéine de 68kDa phosphorylée et localisée à proximité des membranes péri nucléaires, elle est associée à diverses protéines non structurales. Elle contient des motifs caractéristiques des ARN polymérase dépendantes de l'ARN (**Behrens *et al.*, 1996**) (**Figure 07**)

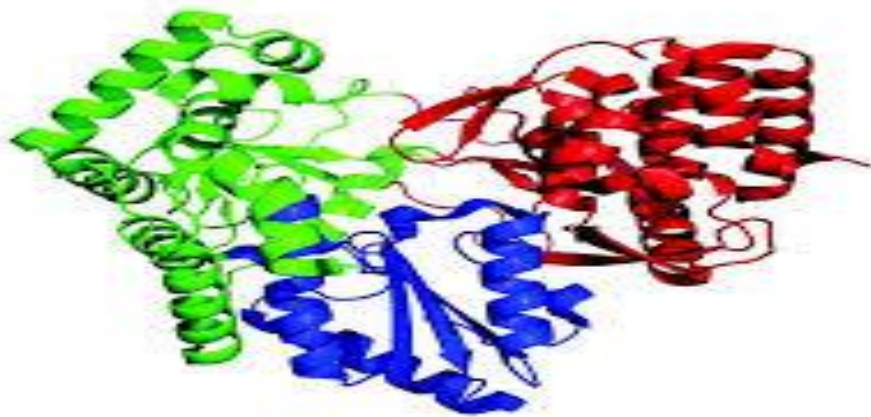


Figure 07 : Structure de la protéine NS5B, formée de la paume (en bleu), du pouce (en rouge) et des doigts (en vert). (PDB ID : 1GX6)

12.2.7. La protéine p7

Cette petite protéine de 7kDa hydrophobe est retrouvée au niveau de la membrane du réticulum endoplasmique. Elle est localisée entre E2 et la protéine NS2, les clivages entre p7 et E2 et entre NS2 et p7 sont catalysés par une signalase cellulaire. La fonction de cette petite protéine est encore mal connue. Il semblerait qu'après polymérisation elle forme un canal ionique, elle joue par conséquent un rôle sur la libération des virions ainsi que sur

l'assemblage des particules virales (**Griffin *et al.*, 2003 ; Pavlovic *et al.*, 2003 ; Griffin *et al.*, 2004**)

12.2.8. La protéine F

La protéine F a une masse moléculaire de 17 kDa, sa durée de vie est très courte d'environ 10min. La protéine F pour « frameshift » est aussi appelée ARFP pour « alternative reading frame protéine ». Sa localisation et sa fonction restent encore peu connues mais elle ne semble pas essentielle à la réplication virale. Des anticorps et des lymphocytes T spécifiques des 57 protéines F ont été retrouvés dans le sang de patients infectés par le VHC suggérant qu'elle est exprimée pendant l'infection. (**Thomas *et al.*, 1995**)

13. Récepteurs biologiques du VHC

L'adsorption du virus sur les cellules cibles lui permet ensuite de pénétrer dans la cellule. Cet événement précoce initie l'infection en fixant le virus sur ses récepteurs 9 spécifiques. Cette étape initiale est déterminante pour le tropisme cellulaire et est aussi un point critique pour la pathogenèse virale. Des récepteurs du VHC ont été identifiés : les molécules CD81 humaines, le récepteur des lipoprotéines de basse densité (rLDL) et le récepteur scavenger type B classe 1 (SRB1/Cla-1). (**Germiet *et al.*, 2001**)

13.1. Les récepteurs CD81

Les molécules CD81 appartiennent à la famille des tétraspanines et sont exprimées à la surface des cellules de mammifères à l'exception des hématies et des plaquettes. Ces molécules sont impliquées dans de multiples fonctions cellulaires telles que l'adhésion et l'agrégation moléculaires. Elles interagissent avec la glycoprotéine d'enveloppe E2, responsable de la fixation du VHC aux cellules cibles. Elles interviendraient également dans la prolifération et la fonction immunitaire des cellules (**Germi *et al.* 2001 ; Pawlotsky, 2002 ; Witteveldt *et al.*, 2002**).

13.2. Les récepteurs des lipoprotéines de basse densité (rLDL)

Des études sur le VHC et les lipoprotéines ont montré que les virus contenus dans les plasmas ou sérums VHC positifs étaient fortement associés aux lipoprotéines de basse densité (LDL) ou aux lipoprotéines de très basse densité (VLDL). Ainsi, il a été proposé

que ce complexe LDL-VHC puisse se fixer aux rLDL cellulaires par le biais de son ligand naturel, les LDL (Germi *et al*, 2001 ;Pawlotsky, 2002).

13.3. Le récepteur scavenger type B classe 1 (SRB1/Cla-1)

Le SR-B1 (Human ScavengerReceptor class B type 1) est une glycoprotéine de 82 Kda. C’est un récepteur physiologique des lipoprotéines de haute densité qui facilite les mouvements cellulaires de cholestérol (Scarselli *et al*.2002). (Figure08)

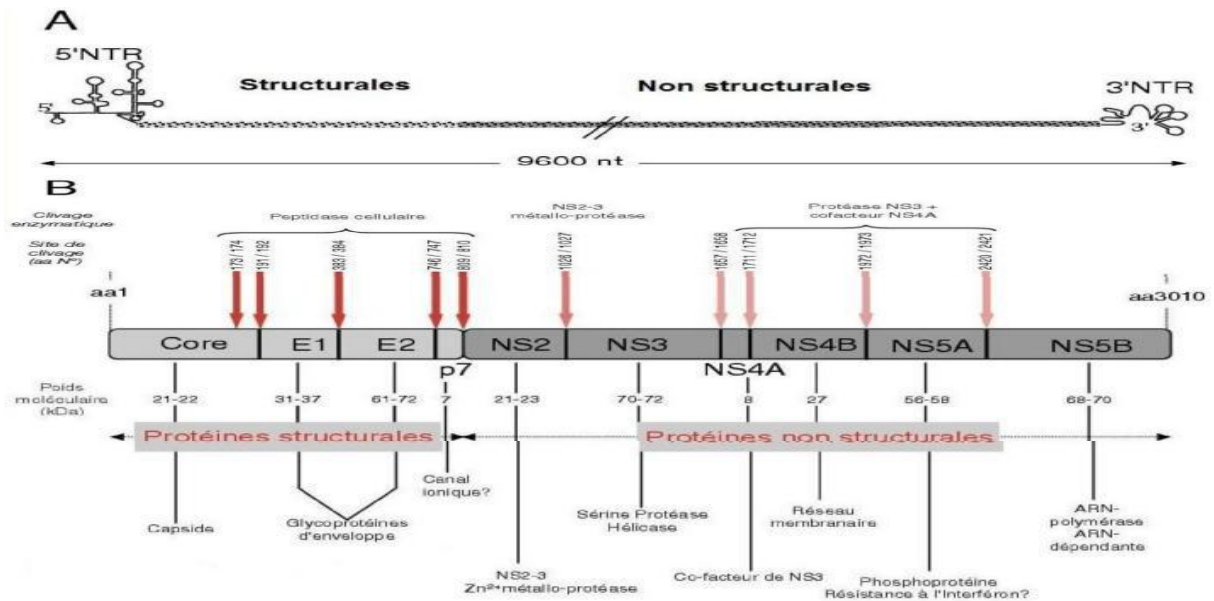


Figure 08 : Organisation génomique et protéique du virus de l’hépatite C.

A : Organisation du génome du VHC B : Maturation de la polyprotéine

14. Cycle cellulaire du virus de l’hépatite C

Le cycle de vie du virus demeure mal connu, du fait de l’absence de systèmes de réplication efficaces (Pawlotsky, 2002). Les hypothèses relatives au cycle de vie du virus suggèrent que le VHC se lierait à un (des) récepteur(s) spécifique(s) à la surface de la cellule hôte pour y entrer par endocytose, comme le font les autres membres des Flaviviridae. Il y aurait ensuite décapsidation du virus et libération du génome viral. Ce dernier est traduit en une polyprotéine précurseur qui est maturée pour donner les protéines virales. L’ARN négatif synthétisé par la réplicase NS3-5B codée par le virus sert de matrice pour la production de quantités excessives d’ARN viral positif.

L'ARN positif est alors encapsidé par le biais de l'interaction avec les protéines structurales. Les particules sont enveloppées en bourgeonnant

dans la lumière du réticulum endoplasmique et sécrétées à l'extérieur de la cellule par le Golgi. (Marcellin *et al.*, 2008). (Figure 09)

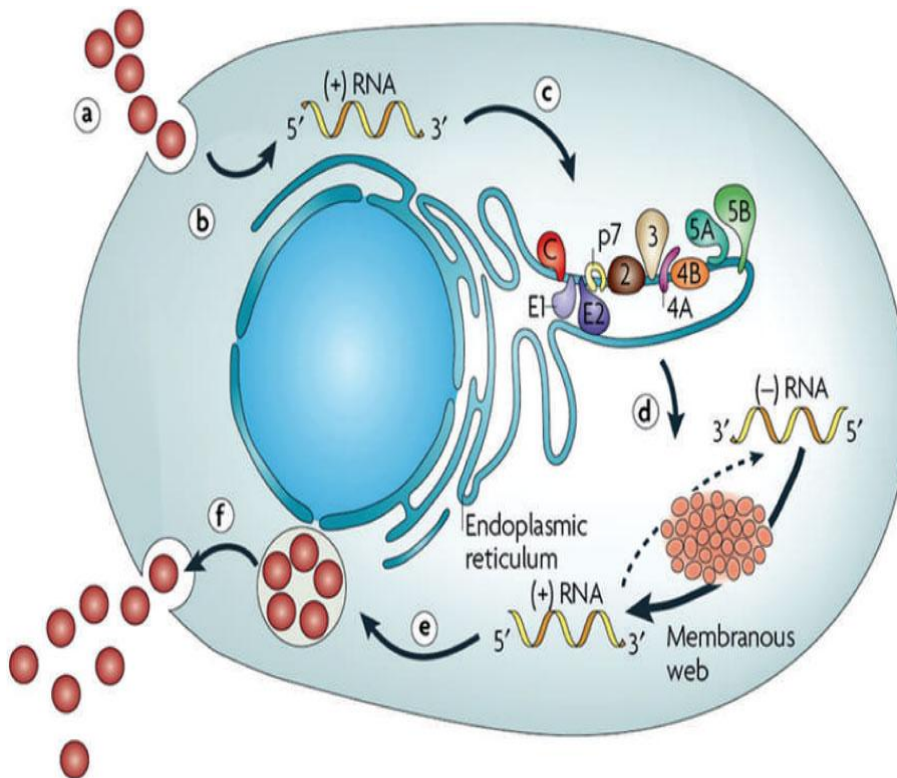


Figure 09 : Représentation schématique du cycle (Marcellin *et al.*, 2008)

15. Production des protéines virales

La traduction du cadre de lecture ouvert du VHC est sous la dépendance d'une structure ARN repliée localisée dans la région 5' non codante du génome viral, L'entrée du ribosome à lieu en amont du codon initiateur. L'IRES (Internal Ribosome Entry Site) via ces domaines II et III va permettre le positionnement de la sous unité 40S du ribosome. (Bartoschet *et al.*, 2003 ; Farci *et al.*, 2002)

16. Réplication

La réplication du VHC (synthèse des ARN viraux génomiques) est assurée par l'ARN polymérase dépendante de l'ARN virale (protéine NS5B) au sein du complexe de

réplication, dont la formation résulte de réarrangements des membranes intracellulaires et qui associe protéines virales non structurales, protéines cellulaires et molécules d'ARN en formation (**Brinster *et al.*, 2001**).

17. Assemblage et excrétion des virions

Les étapes tardives du cycle viral sont mal connues, ceci est dû à l'absence de système de culture cellulaire productive. La formation des particules virales est initiée par l'interaction de la protéine de capsid avec l'ARN génomique qui aboutit à la formation de nucléocapsides. L'assemblage a lieu au sein du réticulum endoplasmique. Les mécanismes d'excrétions sont encore peu connus, les particules virales pourraient être excrétées par exocytose. L'interaction de nucléocapsides formées avec le métabolisme cellulaire des lipides pourrait intervenir dans la maturation des virions et expliquer la présence de particules virales associées aux lipoprotéines dans le sang circulant qui constituent la majeure partie de la fraction infectieuse. (**Marcellin *et al.*, 2008**)

18. Variabilité génétique du VHC

La variabilité génétique du VHC est la cause de l'évolution darwinienne du virus c'est-à-dire que la diversification permanente des populations virales conduit à leur compétition et à la sélection continue des variantes viraux les mieux adaptés à leur environnement répliatif. Ce phénomène est favorisé par :

- ✓ L'abondante production virale au cours de l'infection (~10¹² virions/jour (**Neumann *et al.*, 1998**)) ;
- ✓ La grande taille des populations virales ;
- ✓ Le taux élevé de mutations générées au cours de la réplication (**Domingo, 1998 ; Duarte, *et al.* 1994**).

C'est une caractéristique commune aux virus dont le génome est un ARN. Cette variabilité s'explique par une absence de fidélité des enzymes responsables de la réplication, les ARN polymérases et par l'abondance de la production virale. L'ARN polymérase dépendante de l'ARN est une protéine de 68kDa codée par la région située à l'extrémité 3' du cadre de lecture. Les ARN polymérases sont dépourvues d'activité correctrice 3'-5' exo nucléase, il y a donc environ une erreur par copie du génome qu'elle ne peut corriger. Au cours des cycles de réplication successifs les substitutions vont s'accumuler sur le génome ce qui entraîne des mutations létales. Si ces erreurs surviennent dans des régions où la conservation est indispensable à la survie du virus la conséquence

sera une absence de production de virions infectieux. Si les mutations ne sont pas létales, c'est-à-dire si elles surviennent dans des régions où elles n'empêchent pas la réplication, elles seront transmises à la descendance et s'accumuleront avec les générations. Ces mutations peuvent être considérées comme des avantages ou des désavantages suivant le milieu de réplication du virus. Cette diversification permanente est le résultat de l'évolution darwinienne du virus, ces mutations entraînent une mise en compétition des populations virales et une sélection des populations les plus résistantes suivant l'environnement. On voit ainsi apparaître des populations virales spécifiques suivant l'environnement ou la population de malades. Une variabilité du génome viral a également été observée chez un malade donné au cours de l'évolution de son infection. La détermination du génotype est indispensable puisque certains sont plus résistants que d'autres aux traitements, le choix des molécules et la durée du traitement pourra varier suivant le génotype du VHC. (**Asselah *et al*, 2000**)

19. Diversification des génotypes du VHC

L'analyse des séquences complètes nucléotidiques de souches virales multiples provenant des cinq continents a permis de montrer que ces souches pouvaient être classées en un certain nombre de types et de sous types. Les types ou clades sont numérotés de 1 à 6, on dénombre plus d'une centaine de sous types identifiés au sein de chaque type, ils sont identifiés par une lettre minuscule. Les clades diffèrent les uns des autres par environ 30 à 35% de leur séquence nucléotidique, les sous types diffèrent eux par 20 à 23% de leur séquence. En résumé si l'homologie de séquence entre deux souches virales est supérieure à 90% les souches sont forcément de même type et de même sous type. Si cette dernière est d'environ 80% les types seront les mêmes mais les sous types seront différents. Enfin si l'homologie est inférieure à 70% alors les souches sont considérées comme appartenant à deux types différents. (**Gaudy, Goudeau, 2005**)

De nombreuses régions hypervariables sont retrouvées au niveau du génome du VHC. La région HVR1 de la protéine E2 serait l'un des principaux épitopes neutralisant du VHC, or, au cours de l'infection cette région mute à très grande vitesse ce qui entraîne une absence de reconnaissance des antigènes par les anticorps humains. La mutation d'HVR1 pourrait conduire dans de nombreux cas au passage à la chronicité. (**Khelifa., 2008**) (**Figure 10**)

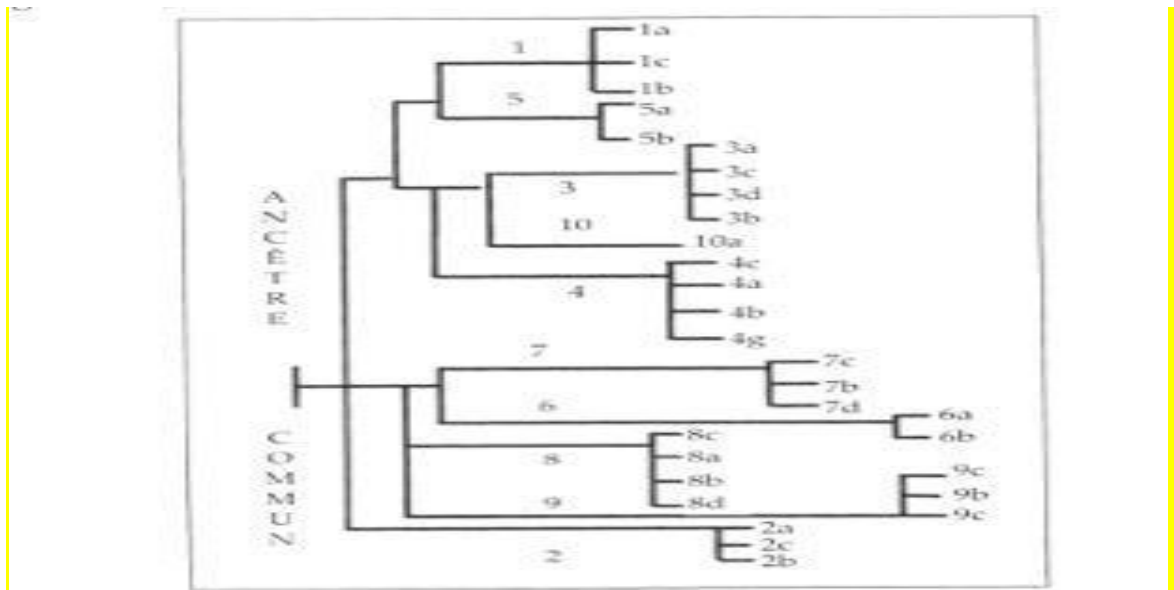


Figure 10 : Représentation d'un arbre phylogénétique des génotypes, sous types et isolats du VHC, région NS5. (Mamette, 2008)

20. Répartition géographique du génotype

La répartition géographique des différents génotypes n'est pas uniforme. En effet, la fréquence d'un type de VHC varie suivant les régions du globe. Les VHC de types 1a, 1b, 2a, 2b et 3a sont présents sur l'ensemble des continents avec des prévalences variables d'une région à une autre, le type 1 étant largement majoritaire dans la plupart des régions. Les virus de type 3 sont présents en Inde. A côté de ces trois principaux génotypes, la répartition des types 4, 5 et 6 apparaît confinée à des régions particulières du globe. Le VHC de type 4 infecte principalement les populations d'Egypte, du Moyen -Orient et d'un grand nombre de pays d'Afrique centrale. Le type 5 est presque exclusivement retrouvé en Afrique du sud et les virus de type 6 sont essentiellement observés dans les populations d'Asie du sud -est. Dans les pays industrialisés. Certains génotypes sont associés aux modes de transmission. Le génotype 1b est associé aux transfusions tandis que les génotypes 1a et 3a sont associés à la toxicomanie intraveineuse. Au Maroc, le sous-type 1b paraît prévalent au sein des groupes des sujets âgés et des hémodialysés (Belaygue ,2017)

21. Distribution en quasi espèce

Le VHC circule chez tout malade infecté sous la forme d'un mélange de variants viraux génétiquement distincts bien qu'apparentés ce sont les « quasi-espèces ». Les modifications de l'environnement au cours de l'infection du VHC sont fréquentes elles

peuvent être spontanées, ou déclenchées par des facteurs extérieurs comme une prise d'antiviraux, une maladie... Les quasi-espèces confèrent un avantage de survie aux virus car ils permettent une sélection rapide et continue de nouveaux variants viraux. Ces derniers sont plus adaptés à l'environnement en perpétuel changement dans lequel ils se développent. Cette capacité de sélection et d'adaptation du VHC est assurée par des forces sélectives antagonistes.

- Les pressions de sélection négative : contrainte de conservation de la structure de l'ARN et des protéines virales afin de conserver leurs fonctionnalités indispensables à la survie des virions (**Jouvencel *et al*, 2006 ; Sentandreu *et al*, 2008**).
- Les pressions de sélection positive : liées à la réponse immunitaire de l'hôte dirigée contre le virus et aux modifications de l'environnement entraînent des changements plus ou moins importants de cette quasi-espèce.

22. Typage du génome viral

Les différentes méthodes utilisées pour la détermination du génotype viral sont :

22.1. Typage sérologique

Ce typage consiste à détecter les anticorps dirigés contre des épitopes viraux connus et spécifiques des différents types. Cette technique sérologique fondée sur un ELISA compétitif ne permet pas l'identification du sous type. Les résultats sont interprétables chez 90% des malades immunocompétents ayant une hépatite chronique C, par contre la sensibilité reste nettement inférieure chez les hémodialysés ou les immunodéprimés. La concordance de cette technique avec d'autres tests moléculaires est excellente et d'environ 95%. Ce typage a un faible coût mais est de moins en moins réalisé au profit du génotypage moléculaire car il ne permet pas de différencier les sous types. (**Belaygue, 2017**)

22.2. Typage moléculaire

Les tests de génotypages sont basés sur l'analyse d'une portion de génome amplifié. Le plus souvent il s'agit de la région 5'NC qui est utilisée pour la détermination du génotype. Cette région possède un certain nombre de polymorphismes permettant de

déterminer le génotype. La technique de référence du génotypage consiste en une amplification suivie du séquençage et de l'analyse phylogénétique des séquences de la région NS5B ou de la région E1 en comparaison à des séquences prototypes de différents génotypes. La région NS5B est représentative du génome en totalité. Il existe deux techniques standardisées, le séquençage direct de la région 5' après PCR ou l'hybridation inverse de produit de PCR de la région 5' non codante à des nucléotides spécifiques de génotype donné fixés sur une bandelette de nitrocellulose. Ces deux techniques permettent l'identification des 6 types ainsi que des sous types. L'identification des sous types est erronée dans 10 à 25% des cas. **(Belaygue ,2017)**

23. Recombinaison génétique

La découverte d'un virus chimère issue d'un événement de recombinaison homologue inter-génotypique (types 2k/1b) qui a été identifié à Saint-Petersbourg en 2002. Depuis, un nombre restreint de virus recombinants inter-génotypiques ou intra-génotypiques a été caractérisé in vivo. Le point de recombinaison est préférentiellement localisé entre les gènes non structuraux NS2 et NS3 **(Legrand ; Izopet, 2008)**

Etude
Expérimentale

Chapitre III
Matériel et
Méthodes

1. Problématique

Les examens sérologiques jouent un rôle très important dans le dépistage de l'hépatite C. Deux techniques sont utilisées par les laboratoires pour mettre en évidence l'agent causal.

Les deux techniques sont : la méthode **ELISA** ; et les tests rapides

En partant de ces données ; on peut poser la question de départ :

- Quelle est la technique de choix pour le dépistage de l'hépatite C ?

2. Type, lieu et période d'études

L'étude a été réalisée au niveau de service de santé publique: **EPH** de sidi Ali-MOSTAGANEM au niveau du laboratoire de sérologie, l'étude s'est déroulée pendant 15 jours.

3. Présentation du laboratoire de l'EPH de sidi Ali- MOSTAGANEM

Ce laboratoire est spécialisé dans les examens de biologie médicale permettant de mesurer les différents constituants des liquides biologiques. Il traite plus de 20 à 30 patients par jour.

Pour les besoins des différentes analyses, le laboratoire de biologie médicale dispose du matériel et des équipements de base communs à tous les laboratoires composés essentiellement de :

- Centrifugeuses
- Matériels de paillasse (pipettes, micropipettes, portoirs...)
- automate biochimique, étuve, spectrophotomètre.

3.1 Sérologie

La sérologie sert à déterminer l'immunité de chacun, de la plus jeune enfance jusqu'à l'âge adulte, sans oublier la femme enceinte, face à diverses infections virales, bactériennes ou parasitaires.

Quand les cultures, identifications antigéniques ou toute autre méthode de diagnostic direct d'agent responsable d'infection ne sont pas utilisables, il est souvent recommandé d'avoir recours aux sérologies infectieuses. Ces méthodes de diagnostic

indirect permettent de détecter et quantifier la présence d'anticorps spécifiques dirigés contre des micro-organismes donnés. Ainsi, il est possible de savoir si un sujet a été en contact avec un agent infectieux ou s'il est bien immunisé.

Paramètres : VIH, hépatites A, B, C, TPHA.

4. Objectif

L'objectif principal de cette étude est :

- 1) Démontrer l'importance de confirmation des résultats des tests rapides et de la technique ELISA.
- 2) Réaliser les deux techniques de préférence dans tout les cas pour éviter les faux négatifs.

5. Population

Il s'agit d'une étude de 869 cas de l'hépatite virale C diagnostiqués, traités et suivis de service de sérologie

à partir de 1 janvier 2020 jusqu'au 10 juin 2020 (**tableau 3**).

Tableau 03 : répartition de la population étudiée

Hommes	Femmes	Total
428	441	869
49,3%	50,7%	100%

6. Méthodologie de travail

6.1. Définition de dépistage

Le dépistage en médecine consiste en la recherche d'une ou plusieurs maladies ou anomalies dites (à risque) chez les individus d'une population donnée. Ces investigations sont suivies ou non de consultation médicale, d'examen cliniques et de traitements.

De plus le dépistage constitue une procédure préliminaire (test ou examen) visant à détecter un ou plusieurs signes ou symptômes caractéristique d'une maladie ou d'un syndrome et pouvant potentiellement mener a une investigation plus approfondie. (**Douglas .M, 2012**)

6.2. Indication de dépistage

- Bilan préopératoire
- Qualification biologique des poches de sang (donneurs de sang)
- Lorsque`une grossesse est envisagée
- Suite a une prise de risque (rapport sexuel non protégé, déchirement du préservatif, partage d'une seringue ou d'un matériel infecté)
- Quand on souhaite savoir ou en est pas rapport au HCV
- Lorsqu`on a besoin de se rassurer (**OMS, 2015**)

7. Les techniques de dépistage du HCV

Il existe plusieurs tests de mise en évidence des anticorps anti-HCV aussi sensibles que les tests ELISA sans pour autant nécessiter de matériel spécial ou de compétences particulière on distingue :

7.1. Les tests rapides

Test rapide ou essai de **CHV** est un examen de diagnostic in vitro d'une étape base sur l'analyse immuno-chromatographic. Elle est conçue pour la détermination quantitative des anticorps contre **CHV** dans le spécimen humain de sérum, de plasma ou de sang total comme aide dans le diagnostic de l'infection par le **CHV**. (**Figure 11**)

Essai rapide en une étape simple de **CHV** :

- prise de sang : 20µl de sang total/de sérum/ de plasma
- excellente représentation 99.5%

Le noyau, les protéines NS3 et NS5 de recombinaison sont employés temps d'essai : 15 min

- stockage : température ambiante (1-30°C)
- durée de conservation : 18 mois



Figure 11 : matériel du test rapide

7.2. La technique ELISA « Enzyme Linked Immuno Sorbet Assay »

7.2.1. Définition

Le test ELISA est une méthode de laboratoire qualifiée d'Immuno- enzymatique. Il s'agit d'un test immunologique, car il a pour principal objectif de mettre en évidence la présence d'anticorps ou d'antigène spécifique à une pathologie, dans un échantillon de sang. (**Figure 12**)

7.2.2. Principe

Les testes ELISA sont des techniques appliquées a la recherche d'AG ou l'AC dans les liquides biologiques :

- 1- L'AG ou l'AC recherche va entrée en réaction avec l'AG ou l'AC fixe sur une phase solide (cupule de la microplaque)
- 2- la réaction AG-AC est détecte par l'addition d'un conjugué est un AC ou AG sue lequel est fixe une enzyme.
- 3- la présence de l'enzyme conjugue fixée sur le complexe AG-AC est révélée par l'addition s'un substrat qui passe d'une phase non colorée a une phase colorée, l'intensité de cette activité enzymatique est mesurée par spectrophotomètre

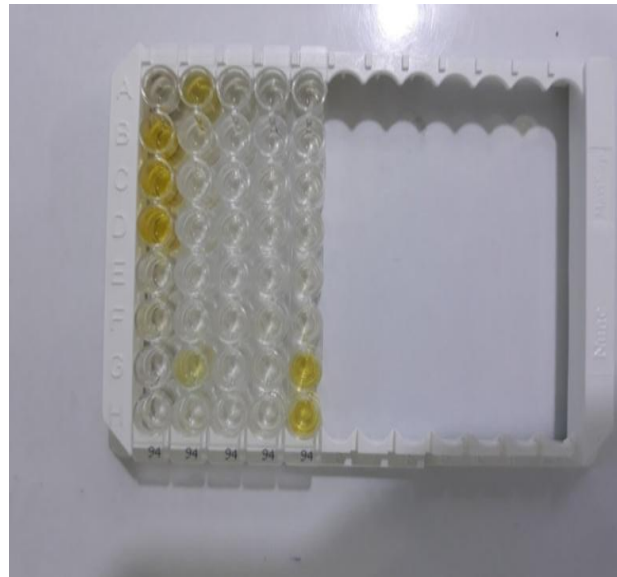


Figure 12 : microplaque d'ELISA

8. Matériels et Méthodes

8.1. Matériels et produits

8.1.1 Test rapide

- Une bandelette
- Sérum du sujet (centrifugation)
- Pipette automatique
- Des gants
- Une carte de test

8.1.2. Matériel d'ELISA

- Couvercles de plaquettes
- Micropipettes
- Etuves incubateur réglée à 37 °C
- Centrifugeuse
- Spectrophotomètre

- Laveur
- Imprimante

8.1.3 Réactifs (réactifs prêts à l'emploi selon le protocole) (Bio-Rad Marnes, 2013) (Figure 13)

- Réactif 1 : Diluant R1
- Réactif 2 : Contrôle positive
- Réactif 3 : Contrôle négative
- Sérum ou Plasma des patients
- Réactif 4 : Conjugue R7
- Réactif 5 : (Conjugue R8 +Conjugue R9)
- Réactif 6 : Stoping1

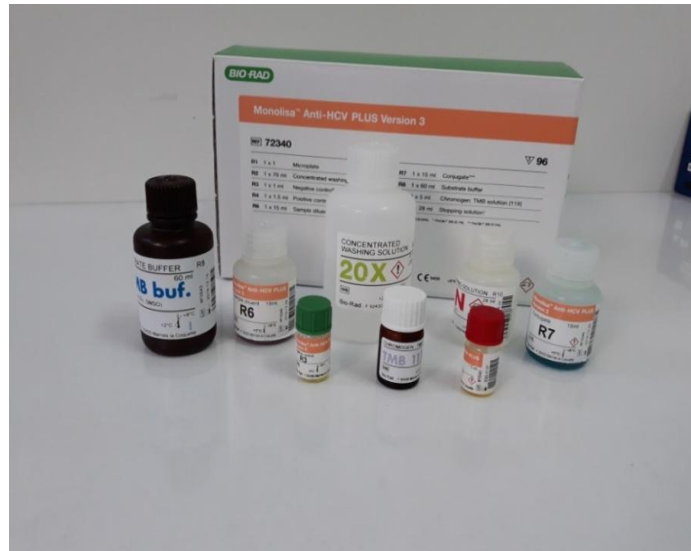


Figure 13 : les réactifs de la technique

8.2. Mode opératoire (Bio-Rad Marnes, 2013)

8.2.1 Test rapide

Peser 50µl de sérum dans la zone de détection sur la bandelette spécifique et laisser agir quelque minute, après en peut lire le résultat manuellement.

8.2.2 Technique ELISA

Le principe d'utilisation dans le laboratoire :

- 1 - Centrifuger les échantillons à analyser pendant 2min, pour séparer le surnageant (sérum) au culot.
- 2 - Utiliser uniquement le nombre de cupules nécessaires pour le test.
- 3 - Ajouter dans les cupules (puits) :
Puits 1 : 50µl Contrôle négative
Puits 2 : 50µl Contrôle positive
Puits 3 : 50µl Contrôle positive
Puits 4 : 50µl Contrôle positive
- 4 -Ajouter 100µl d'échantillons à tester (sérum) dans les restes cupules
- 5-Ajouter 100 µl diluant de R6 dans toute la plaque
- 6- incubation pondant 60 min a 37°C
- 7- lavage 5 fois
- 8- ajoutez 100µl conjugue R7
- 9- incubation pondant 30 min a 37°C
- 10- lavage 5 fois
- 11-Ajoutez 80µl solution de (R8 (100µl) + R9 (10µl))
- 12- incubation pondant 30 min a température ambiante au loin de la lumière
- 13- ajoutez 100µl ° de réactif de stop
- 14- lire au spectrophotomètre
- 15- imprime les résultats

9. Calcul et interprétation des résultats :

9.1 Test rapide

Cas positive : apparition des barre rouges dans la fenêtre contrôle annoter contrôle et la fenêtre patient annoter patient sur la bandelette tout couleur rouge visuelle dans la fenêtre patient doit être interpréter comme un **résultat positif**

9.2 Technique ELISA

La présence ou l'absence d'antigène HCV ou d'anticorps anti-HCV détectable est déterminée en comparant pour chaque échantillon l'absorbance enregistrée à celle de la valeur seuil calculée.

- Calculer la moyenne des absorbances du contrôle négatif (DO) :

$$DO_{CP} = \frac{DO (CP1) + DO (CP2) + DO (CP3)}{3}$$

1) Calcul de la valeur de cut-off :

$$\text{Cut-off} = DO_{CP} \times 0,4$$

2) Calcul de la green zone ::

$$\text{Cut-off}_{10\%}$$

10. Interprétation des résultats

1-Les échantillons dont les absorbances sont inférieures à la valeur de la green zone sont considérés **Négatifs**

2-Les échantillons dont les absorbances sont égales ou supérieures à la valeur de la green zone sont considérés initialement **Positifs**

3-Les échantillons dont les absorbances sont supérieures à la valeur de la green zone sont considérés **Positifs**

Chapitre VI
Résultats et
Discussion

1. Répartition des patients en fonction du sexe

Cette population représente des proportions de 49,3% hommes et 50,7% femmes
(Figure 14)

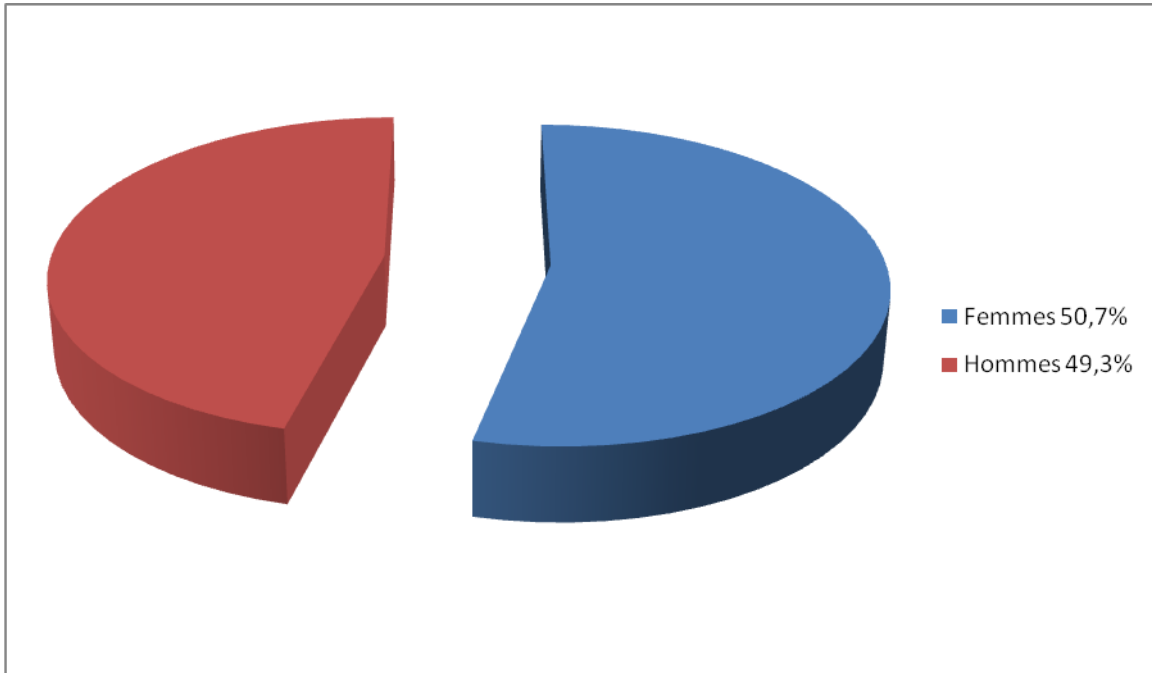


Figure 14: Répartition des patients en fonction du sexe

2. Répartition des patients en fonction du sexe et les cas positifs et négatifs :

Cette population représente le nombre des cas positifs 50 et les cas négatifs 819

Tableau04: Répartition des patients en fonction du sexe et les cas positifs et négatifs .

	Hommes	Femmes	Total
Cas positifs	40	10	50
Cas négatifs	388	431	819
Total	428	441	869

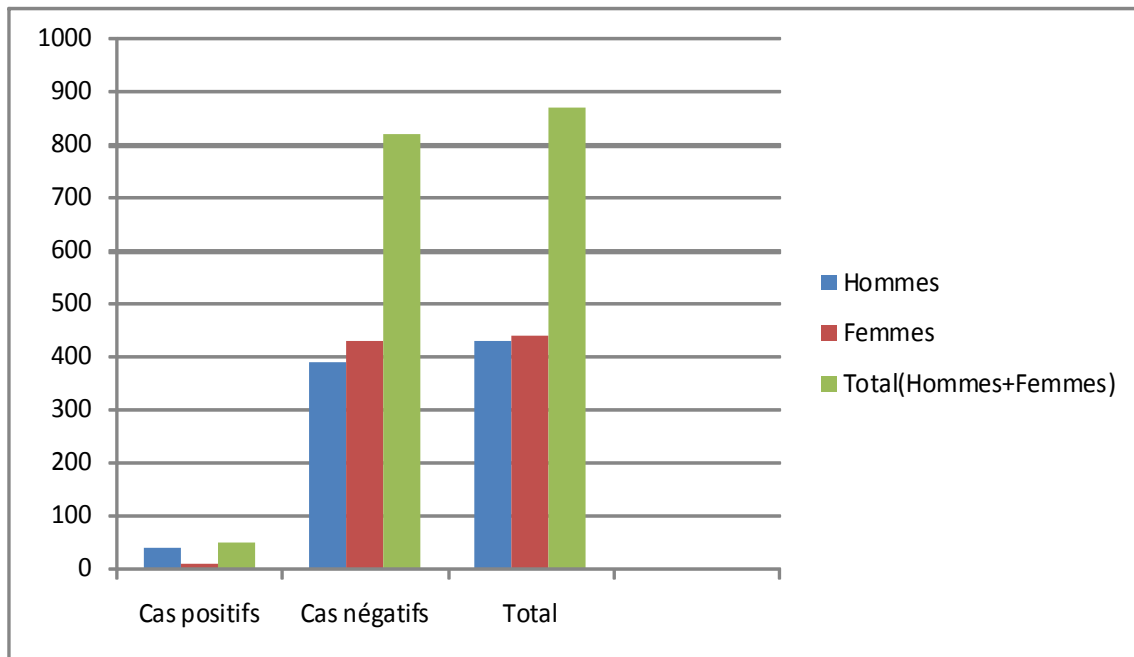


Figure 15 : Répartition des patients en fonction du sexe les cas positifs et négatifs

Les résultats du tableau 3 laissent remarquer que dans les échantillons examinés, sur les 869 patients, il se retrouve 428 hommes et 441 sont des femmes

Et des proportions de 49,3% chez les hommes et 50,7% chez les femmes.

Les résultats du tableau 4 montrent que les patients du sexe masculin présentant un dépistage positif, on note 40 sur 428 ce qui est de l'ordre de 9,3%.

Tandis que les patients du sexe féminin présentant un dépistage positive, on note 10 sur 441 ce qui est de l'ordre de 22,7%.

Durant cette étude les hommes semblent plus disposés et plus exposés à l'infection par le virus de l'hépatite C, et qui confirme les résultats obtenues par (Kechida *et al*, 2006). (Figure 15)

3. La technique utilisé pour le diagnostic du HVC

La répartition des patients se fait en fonction de deux techniques, les tests rapides 15% et technique ELISA 85%. (Tableau 3)

Tableau 05 : les technique utilise pour le diagnostique du HCV

	Tests rapides	Technique ILISA
Cas positifs	8	42
Cas négatifs	19	800
Total	27	842

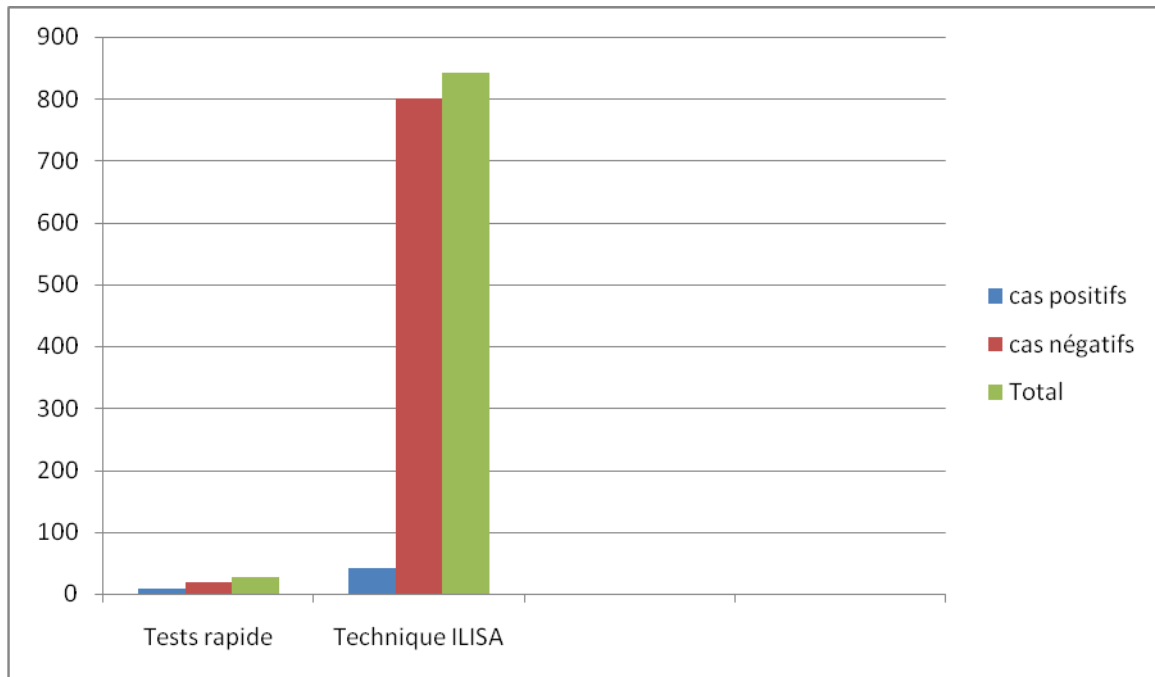


Figure 16 : les techniques utilisées pour le diagnostique du HCV

Le diagnostic des infections par le **VHC** repose, comme celui de toute infection virale, sur deux types de tests : les tests indirects, qui mettent en évidence les anticorps dirigés spécifiquement contre le virus, et les tests directs, qui mettent en évidence des constituants de la particule virale principalement des tests de biologie moléculaire permettant l'étude de l'ARN du **VHC** (Lunel, 1997).

Le tableau 5 ci-dessous montre les deux techniques utilisées dans notre étude, Le test rapide préconisé pour avoir des résultats rapides en quelques minutes (selon l'urgence de l'intervention). Et la technique **ELISA** la méthode de confirmation des tests rapides qui possèdent une excellente sensibilité et une bonne spécificité mais elle prend des heures (Fiegel N, 2014) (Figure 16)

Conclusion

Conclusion

La découverte du virus de l'hépatite C (**VHC**) remonte à 1989 (**Choo et al, 1989**). Depuis cette date, de nombreux progrès ont été faits tant au point de vue de la connaissance du virus que celui du diagnostic des infections et de leur prise en charge thérapeutique et virologique. L'objectif de cette étude est de faire le point sur les deux outils virologiques utiles dans le diagnostic.

L'hépatite chronique C est un problème majeur de sante publique. C'est une **épidémie « silencieuse »** de par ses formes asymptomatiques fréquentes. C'est une **maladie grave** car elle évolue vers la chronicité dans 80 % des cas et est responsable de cirrhose et de cancer hépatique.

C'est une maladie dont on **peut guérir** aujourd'hui. Des médicaments antiviraux de plus en plus efficaces sont disponibles.

Malgré les recherches en cours, il n'y a pas encore **de vaccin** pour la prévention de l'infection par le VHC. De nombreuses questions sont encore à élucider. La prise en charge d'un malade atteint d'hépatite C doit être globale. Il faut rechercher tous les facteurs associés à une moins bonne réponse au traitement (telle la consommation excessive d'alcool, l'obésité, et l'insuline résistance), afin de les traiter.

Les activités de dépistage et la déclaration des cas de VHC diagnostiqués au cours des Dernières années ont permis de mesurer l'ampleur du phénomène. Le VHC est aujourd'hui un problème de santé publique majeur : près d'un pourcent de la population est touchée, la majorité ignore leur statut sérologique, le virus se propage au sein de groupes spécifiques restreints, les conséquences à long terme d'une infection chronique non traitée, en termes de morbidité et de mortalité, sont sérieuses. Ces constats sont suffisamment importants pour justifier des interventions de santé publique

L'Afrique est donc un continent dans lequel la prévalence de l'infection par le VHC varie de façon importante. Le continent africain, tout particulièrement dans sa zone équatoriale, est sûrement l'un des réservoirs majeur du VHC. On peut estimer qu'il y a en Afrique plus de 10 millions de sujets séropositifs pour ce virus et plus de 6 millions de malades virémiques. L'identification des génotypes africains n'est pas terminée et devrait éclairer sous un jour nouveau l'histoire et la diffusion du VHC au niveau planétaire. Les modes de contamination ne sont vraisemblablement pas superposables en Afrique à ceux

Conclusion

identifiés dans les pays industrialisés. Si le rôle de la transfusion est limité, le sang peut être en cause lors d'injections ou de piqûres avec du matériel contaminé. Les transmissions par scarification, tatouage, ou pratique rituelle (circoncision, excision, infibulation) ne sont pas à négliger. On ne doit pas sous-estimer une possible transmission entre individus par contact avec des plaies à la faveur de la grande promiscuité liée aux conditions de vie.

Les références

A

Albert Tran. Gestion des effets indésirables liés aux traitements par interféron et ribavirine au cours de l'hépatite chronique C

Alter.H, Seeff.B. (2000):Recovery, Persistence And Sequelae In Hepatitis C Virus Infection: A Perspective On Long-Term Outcome. *Semin Liver Dis* ; 30: 1735.

Armstrong G.L., Wasley A., Simard E. P. et al, (2006). The Prevalence of Hepatitis 1999 through 2002. *Ann Intern Med.*, 144:705-714.

Asselah T .,Martinot M ., Boyer et Marcellin P . , 2000 Variabilité génétique du virus de l'hépatite C : implications cliniques .Edition :Masson, Paris,vol 24, N° 2 ,p. 175. 35-

B

Bartenschlager R. and Lohmann V., 2000. Replication of hepatitis C virus. *J. Gen.Virol.* ,81:131–1648.

Brinster.C, Inchauspe.G (2001): Dna Vaccines For Hepatitis C Virus. *Intervirology* , 44: 143-53

Bartosch.B, Vitelli.C, Garnier. C, Goujon. J, Dubuisson. S, Pascale (2003):Cell Entry Of Hepatitis C Virus Requires A Set Of Co-Receptors That Include The Cd81 Tetraspanin And The Srb1 Scaenger Receptor. *J Biol Chem*; 278 :41624-30

Behrens. S, Tomei.L, And De Francesco.R (1996): Identification And Properties Of The Rnadependent Rna Polymerase Of Hepatitis C Virus. *Embo J* 15: 12-22

Bartosch. B, Vitelli, C. Garnier, C. Goujon, J. Dubuisson, S. Pascale et al. Cell entry of hepatitis C virus requires a set of co-receptors that include the CD81 tetraspanin and the SRB1 scaenger receptor. *J Biol Chem* 2003 ;278 :41624-30

Bartenschlager, R., M. Frese, et Holland M. (2004). "Novel insights into hepatitis C virus replication and persistence." *Adv Virus Res* 63: 71-180.

Bihl, F., and F. Negro. (2009). Chronic hepatitis E in the immunosuppressed: a new source of trouble? *Journal of Hepatology.* 50:435-437.

C

CHOO Q.L., KUO G., WEINER A. J., and *al.*, 1989. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne Non-A, Non-B viral hepatitis genome. *Science*, 244(4902):359-62.

CHOO Q.L., RICHMAN K. H., HAN J. H., and *al.*, 1991. Genetic organization and diversity of the hepatitis C virus. *Biochemistry*, 88:2451-2455.

D

Docteur Marc BOURLIERE, Les nouvelles molécules anti-VHC : Quand seront-elles disponibles et comment ?

Drs L. Zaidi, S. Issaad, H. El Baz, S. Nadir, A. Cherkaoui. Les actualités thérapeutiques de l'hépatite. *Espérance Médicale* • Juin 2010 • Tome 17 • N° 169 virale C

Deuffic, S, Poynard.T, And Valleron.A(1999): Correlation Between Hepatitis C Virus Prevalence And Hepatocellular Carcinoma Mortality In Europe. *J Viral Hepat* 6: 411-413

F

FREXINOS. S, L. BUSCAIL, HEPATO-GASTRO-ENTEROLOGIE PROCTOLOGIE, 5 éditions MASSON, Hépatites virales PAGE 489, 500, 501, 502, 503.

. Fournier , C. Souvignet, P. merle, P. Miailhes, P. Lack, C. Trepo. Traitement de l'hépatite C : 1

Francesco Negro. Télaprévir et bocéprévir, deux inhibiteurs de la protéase du virus de l'hépatite C ; *Forum Med Suisse* 2013;13(21):414–415

François DURAND. Hépatite C et transplantation hépatique ; *Gastroentérologie clinique & biologique* 2002; 26: 82-90

Fournier , C. Souvignet, P. merle, P. Miailhes, P. Lack, C. Trepo. Traitement de l'hépatite C : 1

Feinstone, S. M., Kapikian, A. Z., Purcell, R. H., Alter, H. J., and Holland, P. V. (1975). Transfusion-associated hepatitis not due to viral hepatitis type A or B. *New England Journal of Medicine*, 292, 767-770.

Feinstone S, Kapikian .A, Purcell.R (1973):Hepatitis A: Detection By Immune Electron Microscopy Of A Viruslike Antigen Associated With Acute Illness. *Science.*; 182:1026-8.

Fiegel.N (2014) : Mémoire sur les tests de dépistage rapide du virus de l'immunodéficience humaine.

Farci.J, Strazzer.R, Alter.H, Farci.S, Degionannis.D, Coiana.A (2002):Early Chages In Hepatitis C Viral Quasispecies During Interferon Therapy Predict The Therapeutic Outcome. *Proc Natl Acad Sei Usa*; 99 : 3081-6

Florence Belaygue 2017 THESE L'hépatite C Les nouveaux traitements & Les recommandations Université de Toulouse III - Paul Sabatier

G

Griffin. S, Harvey.R, Clarke.D, Barclay.W, Harris.M, And Rowlands.D (2004): A Conserved Basic Loop In Hepatitis C Virus P7 Protein Is Required For Amantadine-Sensitive Ion Channel Activity In Mammalian Cells But Is Dispensable For Localization To Mitochondria. *J Gen Virol* 85: 451-461.

Griffin.S , Beales.L, Clarke.D, Worsfold.O, Evans.S, Jaeger.J, Harris.M, And Rowlands.D (2003): The P7 Protein Of Hepatitis C Virus Forms An Ion Channel That Is Blocked By The Antiviral Drug, Amantadine. *Febs Lett* 535: 34-38.

Guirlet F-X (2012) : L'hépatite A Virus C : Les Stratégies Thérapeutiques Actuelles Et En Essais Cliniques, Thèse Université De Lorraine.

GERMI R., CRANCE J.M., GARIN D., and al., 2001. Les récepteurs du virus de l'hépatite C : données actuelles. *Gastroenterol. Clin .Biol.*, 25:1011-1015..

H

HENDERSON D. K., 2003. Managing occupational risks for hepatitis C transmission in the health care setting. *Clin. Microbiol. Rev.*, 16 (3):546–568.

PAWLOTSKY J.M., 2002. Le virus de l'hépatite C. *Med. Sci.*, 18:303-14.

HALFON P, BOURLIERE M, PENARANDA G, CACOUB P. Les marqueurs sanguins non invasifs de fibrose hépatique au cours de l'infection chronique par le virus de l'hépatite C. *La Revue de médecine interne* 2006;27:751–61

Hornbeck. P (2001). Enzyme-Linked Immunosorbent Assays. *Curr Protoc Immunol*, [Http://Dx.Doi.Org/10.1002/0471142735.Im0201s01](http://dx.doi.org/10.1002/0471142735.im0201s01) (Chapitre 2 : Unité 2.1)

Hépatite C : prévalence mondiale. *Relevé épidémiologique hebdomadaire*. 1997; 72: 341-348.

Henke.J. I., Goergen.D, Zheng.J,Song.Y (2008):MicroRNA-122 Stimulates Translation Of Hepatitis C Virus Rna. *Embo J* 27: 3300-3310

<http://www.soshepatites.org/le-foie-et-les-hepatites>

K

Kuo, G., Q. L. Choo, H. J. Alter, G. L. Gitnick, A. G. Redeker, R. H. Purcell, T. Miyamura, J.L. Dienstag, M. J. Alter, C. E. Stevens, (1989). An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human non-A, non-B hepatitis. *Science* 244- 362

L

Lohmann, V., Korner, F., Herian, U., and Bartenschlager, R., (1997). Biochemical properties of hepatitis C virus NS5B RNA-dependent RNA polymerase and identification of amino acid sequence motifs essential for enzymatic activity. *J. Virol.*, 71(11): p. 8416-28.

Lemon SM, Walker C, Alter MJ, Yi M. (2007). Hepatitis C Virus. In : Knipe DM, Howley PM, eds. *Fields Virology*. : 1253-304

M

Marcellin, T. Asselah, progrès en hépato-gastroentérologie, Hépatites virales, 9

nouvelles séries ; 18 : 22-23-27

Meylan.E, Curran. K, Hofmann.D, Moradpour. M, Binder.R, Bartenschlager.R, And Tschopp.J (2005):Cardif Is An Adaptor Protein In The Rig-I Antiviral Pathway And Is Targeted By Hepatitis C Virus. Nature 437: 1167-1172

MAST E. E., HWANG L.Y. SETO D. S. Y., (2005). Risk factors for perinatal transmission of hepatitis C Virus (HCV) and the natural history of HCV infection acquired in infancy. J. Infect. Dis., 192:1880–9.

Mario Rizzetto, et al « Hépatologie clinique », Paris : flammarion, édition 2, 2002 2148p (p827-954

Mammette.A (2002) : Virologie Médicale :Lyon : Presses Universitaires De Lyon, 798p (329-352p)

O

Organisation mondiale de la Santé. Hépatite C. Brochure N 164, Genève: OMS,2004, disponible en ligne

L'organisation Mondiale De La Santé (OMS) 2017.Global hepatitis report. Geneva.2017.<http://www.who.int> yeni. Prise en charge médicale des personnes infectées par le VIH, Rapport 2010, chapitre 14 : 270-271

P

PAWLOTSKY J.M., 2002. Le virus de l'hépatite C. Med. Sci., 18:303-14.

3- Pawlotsky J.M ., 2003. Flaviviridae-Virus de l'hépatite C et virus GB-C. In : Traité de virologiemédicale. Paris : Editions ESTEM, 699 p .

Pawlotsky. Molecular diagnosis of viral hepatitis. Gastroenterology 2002; 122: 1554-68.

R

Roberts. A, Lewis.P, And Jopling.C (2011):Mir-122 Activates Hepatitis C Virus Translation By A Specialized Mechanism Requiring Particular Rna Components. *Nucleic Acids Res* 39: 7716-7729.

ROUSSEL, et al « Characterization of the expression of the hepatitis C virus F protein » *J gen Virol* 84: 1751-59

S

Silini, F. Bono, A. Cividini, A. Cerino, S. Bruno, S. Rossi, G. Belloni, (1995): Differential Distribution Of Hepatitis C Virus Genotypes In Patients With And Without Liver Function Abnormalities. *Hepatology*; 21: 285-90

SCARSELLI E., ANSUINI H., CERINO R., and al., 2002. The human scavenger receptor class B type I is a novel candidate receptor for the hepatitis C virus. *EMBO J.*,21(19) :5017-5025.

T

Takahashi.M, Yamada.G, Miyamoto.R (1993):Natural Course Of Chronic Hepatitis C. *Am J Gastroenterol*; 14: 969-74.

W

WHO, 1997.Hepatitis C: Global update. *Wkly. Epidemiol. Rec.*, 72:341–4.

WITTEVELDT J., EVANS M. J., BITZEGEIO J.,and al., 2002. CD81 is dispensable for hepatitis C virus cell-to cell transmission in hepatoma cells. *EMBO J.*, 21(19):5017-5025.

Z

ZARSKI JP., LEROY V. « Marqueurs sériques de fibrose ». In: MARCELLIN P., ASSELAH T. Hépatites virales. Wolters Kluwer France SAS, 2008: 255-265

Résumé

L'hépatite C est une maladie infectieuse causée par un virus (HCV) qui attaque le foie et provoque une inflammation et se termine par une cirrhose. Le virus de l'hépatite C est transmis par voie sanguine essentiellement, par usage de matériel contaminé. La maladie peut également être transmise d'une mère atteinte à son enfant. La transmission sexuelle est exceptionnelle.

Elle constitue un problème de santé publique dans le monde, et l'Algérie reste un pays d'endémie intermédiaire.

Le diagnostic sérologique a été effectué suivant deux méthodes couramment utilisées dans le domaine médical. ELISA, est l'une des techniques la plus utilisée la plus fiable des techniques immunosérologiques dans la détection des particules virales à des quantités très infimes.

Mots clés : ELISA, HCV, Hépatite c, anti-HCV.

Abstract

Hepatitis C is an infectious disease caused by a virus (HCV) That attacks the liver and causes an inflammation and ends with cirrhosis. Hepatitis C virus is transmitted mainly through blood and the use of contaminated equipment. The disease can also be transmitted from an affected mother to her child. Sexual transmission is exceptional.

It is a public health problem worldwide, and Algeria remains an intermediate endemic country.

Serological diagnosis was carried out using two methods commonly used in the medical field. ELISA is one of the most reliably used techniques of serological immunology in the detection of viral particles in very small quantities.

Keywords: ELISA, HCV, Hepatitis c, anti-HCV.

ملخص

هيباتيسيس سييس مرض معدني ناجم عن الفيروس (هكف) التي هجمات الكبد و يسبب التهاب و ينتهي مع تليف الكبد. يتم نقل الفيروسات جيراتيتيس اساسا من خلال الدم و استخدام المعدات الملوثة. و يمكن أيضا أن يكون المرض من ألام أثرت لطفتها ناقل الحركة الجنسي استثنائية.

بل هي مشكلة صحية عامة في جميع أنحاء العالم، و لا تزال الجزائر متوطنة متوسطة

تم تنفيذ التشخيص المصلي باستخدام طريقتين تستخدم عادة في الطببة المجال. إلبسا هي واحدة من أكثر تقنياتها بشكل موثوق من المناعة المائية في الكشف عن الجسيمات الفيروسية في كميات صغيرة جدا.

الكلمات المفتاحية : ELISA، HCV، Hepatitis c، anti-HC