



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Larbi Tébessi – Tébessa –

Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Département : Biologie appliquée

MEMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences biologiques

Filière : Biologie appliquée

Option : Biologie moléculaire et cellulaire

Thème :

**Etude sur la toxicité hématologique du traitement
Anti – VHC chez les patients atteints d'hépatite C**

Présenté Par :

MESSAADIA Regaia

TOUATI Zahia

Devant le jury :		
MESSAADIA Amira	MCB-Université de Tébessa	Présidente
GUEDRI Kamilia	MCB-Université de Tébessa	Promotrice
BELGUENDOZ Karima	MAA-Université de Tébessa	Examinatrice

Date de soutenance : 26 mai 2018

Note :..... Mention :.....

Remercîment

Tout d'abord, nous remercions le Dieu, notre créateur de nous avoir donné les forces, la volonté et le courage afin d'accomplir ce travail modeste.

Nous adressons le grand remerciement à notre encadreur Mdm Geudri Kamilia qui a proposé le thème de ce mémoire, pour ses conseils et ses dirigés du début à la fin de ce travail.

Nous tenons également à remercier mes dames les membres de jury pour l'honneur qu'elles nous ont fait en acceptant de siéger à notre soutenance, tout particulièrement :

Je tien particulièrement a exprimé mes plus vifs Remercîment et ma profond gratitude à mon encadreure GUEDRI k docteurs à l'université de tebessa. Qui m'afait l'honneur d'assurer la direction de ce travaille qui a se faire preuve de passience

Mme MESSADIA Amira pour nous avoir fait l'honneur de présider le jury de ce mémoire.

Nous souhaitons exprimer notre gratitude à Mdm BELGUENDOZ Karima en tant qu'examinatrice.

Finalement, nous tenons à exprimer notre profonde Gratitude à Mr HAFDALLAH Abd al-Kader et Mr Mchei Abd el basset et nos familles qui nous ont toujours soutenues, Ainsi que l'ensemble des enseignants qui ont contribué à notre formation.

Tout le personnel du EPSH CHBOUKI Mohammed, EPSH BOUGHERRA Boulaarass et institut PASTEUR d'Alger.

À mes collègues, mes enseignants à l'Université de Tébessa, à toutes les personnes qui ont contribué à la réussite de ce travail.



Dédicace

Je dédie ce modeste travail à mes chers parents

*Les deux personnes, les plus chers au monde que je ne remercie jamais assez
leurs aides, encouragement Soutien, sacrifices et leurs patience pendant mes années
d'études.*

Que dieu leurs accorde une longue vie

A mes très chères frères et sœurs

A Je remercie ma binôme ROUKI, que j'ai eu

L'honneur de faire leur connaissance avec tous ses amies

A mes chères amies : Sara, panda et kotbi

A mes copines : amoura, Kim NANA, Jujitta, Sara, Assala.

A Mes amies de l'enfance : Tima et hadjer.

Zouzou



Dédicace

*A mon dieu grace au leur réussite, renfort et faveur.
Aujourd'hui et après toutes ces années, j'ai l'honneur, mais surtout le
plaisir de dédicace travail.*

*à toutes les personnes qui m'aiment, qui croient en moi et me donne
des raisons de devenir meilleure.*

*Je ne remercierai jamais assez mes chers et adorables parents :
Maman "Malika", puisse dieu tout puissant assurer le repos de votre
âme par sa saint miséricorde.*

*Accorder sa clémence, accueillir dans son saint paradis.
La source de mes joies, secrets de ma force. Vous serez toujours le
modèle PAPA "Mostafa" dans la*

*Détermination, ta fore, et ton honnêteté, ta patience. Merci de
trimer sans relâche, malgré les péripéties de la vie.*

*Et aussi mes frères, messieurs spécialement " Ambouba."
Quant à mes chères khoukhi, nina, Wada, Dodi, nahOo, yoss, et Soso,
je les remercient pour*

*Son aide précieuse dans toute ma vie et qui été toujours à mes cotés
et m'a*

Soutenu psychologiquement, notre amitié est une histoire sacrée.

*Je remercie ma binôme Zahia Touati, que j'ai eu
L'honneur de faire leur connaissance avec toutes ses amies.*

Hanan

ABSTRACT

Viral hepatitis C (HCV) is a global health problem that affects a significant number of people around the world, HCV treatment is evolving rapidly with the development of more effective and well-tolerated direct-acting antivirals that will modify therapeutic strategies, predictors of response and patient follow-up procedures.

In order to investigate the hematological toxicity of Anti-HCV treatments, we carried out a comparative study, which involved 150 men and women at different ages. The determination of the various Hematological (CBC), biochemical (TGO, TGP, GLY) and virological parameters (viral load and genotype) was performed.

The prevalence of hematological toxicity was estimated from White bloodcells (WBC, LYM, MID, Gran), Redbloodcells (RBC,HGB, HCT, MCV,MCHC, RDW), and Platelets in the blood (MPV, PBC).

The results show the presence of a high hematological toxicity (thrombocytopenia, leukopenia and anemia) in patients with HCV and receiving treatment with Sofosled + Ribavirin (Two therapy) and sofosled + ribavirin + INFpeg (triple therapy) and low toxicity at treated by sofosled (monotherapy).

Key words: HCV, Ribavirin, Sofosled, Sofosbivure, INF peg, CBC, Hematologic toxicity.

RESUME

L'hépatite virale C (VHC) est un problème de santé mondiale qui touche un nombre important des personnes à travers le monde, le traitement du VHC connaît une évolution rapide avec le développement d'antiviraux à action directe plus efficaces et mieux tolérés qui vont modifier les stratégies thérapeutiques, les facteurs prédictifs de réponse et les modalités de suivi des patients.

Dans le but d'investiguer la toxicité hématologiques des traitements Anti-VHC, nous avons réalisé une étude comparative, elle a porté sur 150 personnes hommes et femmes à différents âges. On a réalisé le dosage des différents paramètres Hématologiques (FNS), biochimiques (TGO, TGP, GLY) et virologique (charge virale et génotype).

La prévalence de la toxicité hématologique a été estimée à partir des valeurs érythrocytaires (GR, VGM, TCMH, HTC, IDR et HGB), thrombocytaires (PLT, VPM) et leucocytaires (GB, GRA, MON et LYM).

Les résultats montrent la présence d'une forte toxicité hématologique (Thrombopénie, leucopénie et une anémie) chez les patients atteints de VHC et recevant un traitement par Sofosled +Ribavirine (bithérapie) et par sofosled+ribavirine+INFpeg (trithérapie) et une faible toxicité chez les traités par le sofosled (monothérapie).

Mots clés: VHC, ribavirine, sofosled, INF peg, FNS, Toxicité hématologique

تلخيص

التهاب الكبد الفيروسي س هو مشكلة صحية عالمية تؤثر على اعداد كبيرة من الناس في جميع انحاء العالم وقد عرف علاجه تطور سريع مع تطور مضادات الفيروسات التي تعمل مباشرة بأكثر فعالية وأكثر تحملا التي تعدل الاستراتيجيات العلاجية وعوامل الاستجابة الأولية وطريقة متابعة المرضى.

ومن اجل التحقيق في السمية الدموية لعلاج المضاد للفيروس س أجرينا دراسة مقارنة شملت 150 مريضا (رجال ونساء) بأعمار مختلفة. تم اجراء تحاليل دموية مختلفة بيوكيميائية وفيروسية (كمية الحمض النووي الفيروسي في الدم والنمط الجيني).

انتشار السمية في الدم قدرت اعتمادا على قيم كريات الدم الحمراء والصفائح الدموية وكريات الدم البيضاء.

نتائج هذه الدراسة بينت وجود سمية في الدم (فقر الدم نقص في الصفائح الدموية) عند مرضى الالتهاب الكبد الفيروسي الذين يخضعون لعلاج ثنائي وثلاثي وبينت أيضا نقص هذه السمية لدى المرضى الذين يخضعون لعلاج احادي.

الكلمات المفتاحية: فيروس الالتهاب الكبدي س-ريبيفا رين - سوفوس لاد -انترفيران- سوفوس بيفير- صيغة تعدد

الدم . السمية في الدم.

Liste des figures

Numéro	Titre	page
1	Arbre phylogénétique schématique des genres et des principaux virus de la famille des <i>Flaviviridae</i> .	03
2	Représentation schématique du VHC.	04
3	Organisation du génome viral.	04
4	Représentation schématique des glycoprotéines d'enveloppe E1 et E2 du VHC.	07
5	Structure du domaine NS2 catalytique après clivage par la protéase NS2/3.	08
6	Structure 3D du complexe NS3/4A.	09
7	Représentation schématique de la protéine NS5A.	10
8	Structure tridimensionnelle de la partie non transmembranaire de la protéine NS5A.	11
9	Structure tridimensionnelle de la région non transmembranaire de la protéine NS5B.	12
10	Cycle Viral du VHC.	12
11	Modèle d'entrée du VHC.	13
12	Modèle de formation du complexe d'initiation de la traduction.	14
13	Organisation du génome, maturation de la polyprotéine précurseur du VHC et localisation des protéines au niveau du RE.	15
14	Modèle proposé pour l'assemblage du VHC.	16
15	Analyse phylogénétique des séquences nucléotidiques d'une partie de NS5B	21
16	prévalence mondiale de VHC 2010.	23
17	Schéma de l'évolution d'une infection par le VHC.	27
18	Les cibles potentielles des agents antiviraux directs.	31
19	Les réactifs de RT-PCR.	44
20	Les échantillons (sérum des patients)	44
21	Extracteur (Abbott m2000spt).	44
22	Plaque finale contient l'ARN virale (ARN d'HCV).	45
23	Amplificateur (Abbott m2000rt).	45
24	Principe d'ELISA.	46
25	Quelque réactif d'ELISA.	46
26	Manipulation d'ELISA.	47
27	Un automate d'Abacus 380 à 19 paramètres.	49

28	Répartition des patients selon le sexe	54
29	Répartition des malades selon l'Age.	54
30	Répartition des génotypes viraux dans la population étudiée	55
31	Répartition selon la charge virale initiale	56
32	Variation des paramètres érythrocytaire GR, VGM, HGB, TCMH, HCT et IDR chez les sujet sain, malade et traités	59
33	Variation des paramètres leucocytaires chez les sujets sains, malades et traités.	61
34	Variation des paramètres Thrombocytaire (PLT et VPM) chez les sujets sains, malades et traités.	63
35	Variation des paramètres biochimiques (Gly, TGP et TGO) chez les sujets sains, malades et traités.	65

Liste des tableaux

Numéro	Titre	page
01	Présentation et posologie des médicaments de l'hépatite C.	35
02	Agents antiviraux disponibles ou en cours de développement dans le traitement de l'hépatite C dont les résultats ont été publiés ou présentés dans des congrès scientifiques.	37
03	Caractéristiques de la population étudiée.	53
04	Les différents Génotypes dans la population étudiée	35
05	Répartition selon la Charge virale initiale.	55
06	Variation des paramètres érythrocytaire GR, VGM,HGB, TCMH, HCT et IDR chez les sujets sains, malades et traités.	67
07	Variation des paramètres leucocytaires chez les sujets sains, malades et traités.	60
08	Variation des paramètres Thrombocytaire chez les sujets sains, malades et traités.	62
09	Variation des paramètres biochimiques chez les sujets sains, malades et traités.	64

Liste d'abréviation

3' NC : 3' Non Codante.

5'NC : 5' Non Codante.

AA : Acide Aminé.

AAD : Antiviraux à Action Directe.

Ac : Anticorps.

ADN : Acide Désoxyribonucléique.

ADN c : Acide désoxyribonucléique complémentaire.

AFEF : Association Française pour l'Etude du Foie.

ALAT : Alanine Amino Transférase.

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché.

ARFP : Alternate Reading Frame Protein.

ARN : Acide Ribonucléique.

BVDV : virus de la diarrhée bovine virale.

CHC : Carcinome Hépatocellulaire.

CPA : Cellule Présentatrice de l'Antigène.

CSFV : virus de la fièvre classique porcine.

DENV : virus de la dengue.

DO:densité optique

eIF2 : Facteur d'Initiation de la Transcription eucaryote.

ELISA : Enzyme-Linked Immuno-Sorbent-Assay.

GB : globules blanc.

GBV : virus des hépatites G.

GR : globules rouges.

GRAN : granulocyte.

GTP :Guanosine Triphosphate.

HCV : virus de l'hépatite.

HDL : Lipoprotéine de Haute Densité.

HGB : hémoglobine.

HTC : hématocrite.

HVR 1 : Région Hypervariable 1.

HVR 2 : Région Hypervariable 2.

IDR : Indice de distribution de globule rouge.

IFN-PEG : Interféron pégylé.

IFN- α :Interféron-alpha.

IL-2: interleukine 2.

IN : Inhibiteurs Nucléos(t)idiques.

INN : Inhibiteurs Non Nucléos(t)idiques.

IP : Inhibiteur de Protéase.

IRES : Site Interne d'Entrée du Ribosome.

JEV : virus de l'encéphalite japonaise.

Kda : Kilodalton.

LD : Gouttelettes Lipidiques.

LDL : Lipoprotéines de Faible Densité.

LDLox : Lipoprotéine de Faible Densité Oxydée.

LDL-R : Récepteur des Lipoprotéines de Faible Densité.

LDV : Ledipasvir.

LPL : Lipoprotéine Lipase.

LYM : lymphocytes.

M : malade.

Mono : monocyte.

MTP : Protéine Microsomale de Transfert.

NK : Cellule Natural Killer.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

ORF : Open Reading Frame (cadre de lecture ouvert).

PCR : Polymérase Chaîne Réaction.

PKR : Protéine Kinase R.

PLT : plaquettes.

RBV : Ribavirine.

RC : Complexe de Réplication.

RdRp : ARN polymérase ARN-dépendante.

RE : Réticulum Endoplasmique.

rLDL: Receptor of Low density lipoproteine.

RT : Reverse transcription (transcription inverse).

RVS : Réponse Virologique Soutenue.

S : sain.

S2, S4, S6, S8 : semaine 2, semaine 4, semaine 6, semaine 8.

SAA : Apolipoprotéine Sérum Amyloide A.

Sof : Sofosled.

Sofos : Sofosbivure.

T : témoins.

T(BI) : traitée avec Bithérapie.

T(MONO) : traitée avec monothérapie.

T(TRI) : traitée avec Trithérapie.

TCMH : teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH).

TGO : Transaminase glutamino-oxaloacétique.

TGP : Transaminase glutamyl-pyruvique.

Th : T-helper.

VGM : volume plaquettes moyenne.

VHA : Virus de l'Hépatite A.

VHB : Virus de l'Hépatite B.

VHC : Virus de l'Hépatite C.

VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine.

VLDL : Lipoprotéines de Très Faible Densité.

VS:vitesse seuil

YFV : virus de la fièvre jaune.

Remerciement	
Dédicace	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	

TABLE DE MATIRE

Résumé	
Abstract	
ملخص	
Introduction	01
Chapitre 01 :Synthèse bibliographiques	
I- Le virus de l'hépatite C : données moléculaires.	03
A – presentation virologique	03
1 – Classification taxonomique	03
2 - Particule virale	03
3 - génome viral	04
B - structures et fonctions des proteines virales	06
1 - Protéines structurales	06
2 - Protéines non structurales	07
C– cycle viral et reponse immunitaire de l'hote	12
1 –cycle viral	12
2 - Tropisme	17
3– Récepteurs biologique du VHC	17
4-Réactions immunitaires et mécanismes d'échappement du virus	17
D. Génétiques	20
1- Variabilité génétique ou quasi-espèces	20
2- Génotype	21
3- Répartition géographique du génotype	21
II - Le virus de l'hépatite C : données épidémiologiques et cliniques	22
A - épidemiologie de l'hepatite c	22
1. Au niveau mondial	22
2. La situation en Algérie	23
3 - Mode de transmission	24
B - histoire naturelle de l'infection par le vhc	25

1- Infection aiguë	25
2 - Infection chronique	26
D-Techniques du diagnostiques du VHC	27
1- les tests indirectes (testes sérologique)	27
2- les techniques de biologie moléculaire	28
III- Stratégie thérapeutique devant l'hépatite c	29
1- historique du traitement	30
2- Objectif du traitement	30
3- Moyens thérapeutique	30
4- Les caractéristiques des médicaments disponibles en Algérie	32
5- Agents antiviraux disponibles ou développement dans le traitement	36
6- Instruction n° 17 relative a la prise en charge de l'hépatite viral c (institut pasteur d'Algérie)	38

Chapitre 02 : Matériel et Méthode

I. Matériel	39
1- Prélèvement sanguin	39
2- Lieu et durée de l'étude	39
3-Type de l'étude	39
4- Population cible	39
II. Méthode	40
1- Données	40
2- Le bilan pré-thérapeutique et les bilans durant le traitement	40
3- Les protocoles thérapeutiques	41
4- Collecte des données	41
5- Préparation des échantillons	42
6- Les paramètres virologiques effectués	42
7- Dosage des paramètres hématologiques	48
8- Dosage des paramètres biochimiques	49
9- Analyse statistique	52

Chapitre 03 : Résultat

I-caractéristiques de la population étudiée	53
1-Répartition selon le sexe	54
2- Répartition par âge	54
3-Répartition selon le génotype	55

4-Répartition selon la charge virale initiale	55
II-Etude hématologique	56
1- Variation des paramètres érythrocytaire chez les sujets sains, malades et traités	56
2- Variation des paramètres leucocytaires chez les sujets sains, malades et traités	59
3- Variation des paramètres Thrombocytaire chez les sujets sains, malades et traités	62
III- Variation des paramètres biochimiques chez les sujets sains, malades et traités	63
Chapitre 04 : Discussion	
IV –Discussion	66
Conclusion	70
Référence bibliographique	
Annexes	

Introduction

Introduction

L'hépatite C est une maladie nécro-inflammatoire du foie, due à une infection par un virus hépatotropique ; le virus de l'hépatite C, L'identification de ce virus (VHC) est assez récente puisqu'elle date de 1989 (**Agnello *et al.*, 1999**). Ce virus à ARN est responsable de l'hépatite C dans sa forme chronique, peut conduire au développement de la cirrhose et du cancer du foie. L'infection par le VHC est un problème majeur de santé publique. Selon les estimations de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), il y aurait environ 130 à 210.000.000 d'individus infectés par le virus de l'hépatite C (VHC), soit environ 3% de la population mondiale, VHC 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, les études épidémiologiques récentes concernant la population générale algérienne, 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.

Le virus C présente une grande hétérogénéité génétique. Il peut être classé en 6 géotypes 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 géotype 1 étant le plus fréquemment rencontré dans nos régions, suivi par les géotypes 2. Le géotype 4 est le géotype le plus rencontré en Afrique Centrale et au Moyen Orient. Les géotypes 5 et 6 sont plus marginaux et prédominent en Afrique du Sud pour le premier, en Asie du Sud Est pour le second (**Pawlotsky, 2004**).

Les traitements ont été considérablement développés depuis ces dernières années, le taux de réponse virologique est passé de moins de 20% au moment de la découverte, à 47% sous bithérapie interféron/ribavirine et à 61% sous bithérapie pégylé 20 ans plus tard.

A l'heure actuelle, différentes molécules ciblant spécifiquement le VHC et appelées antiviraux à action directe (AAD) sont en cours de développement ou déjà mises sur le marché dans certains pays développés. Ces molécules apparaissent comme une révolution dans le traitement de l'infection par le VHC. Elles visent à bloquer une des étapes du cycle viral afin d'empêcher la production des particules virales infectieuses par les hépatocytes infectés. Elles comprennent les inhibiteurs de protéase NS3 (IP), les inhibiteurs nucléosidiques (IN) et les inhibiteurs non nucléosidiques (INN) de la polymérase NS5B et les inhibiteurs de la protéine NS5A, permettant, lorsqu'elles sont utilisées en association, d'augmenter le taux de succès thérapeutique chez les patients chroniquement infectés (**Susser *et al.*, 2009 ; Pawlotsky, 2011 ; Pawlotsky, 2014**).

Plusieurs études cliniques ont montré l'efficacité de ces différents inhibiteurs ainsi que l'augmentation des taux de réponse virale soutenue (RVS) dans les schémas thérapeutiques incluant ces molécules.

En Algérie le traitement est bien codifié et repose actuellement sur la monothérapie par le (Sofosled), la bithérapie (Sofosled de plus Ribavirine) et la trithérapie (Sofosbivure de plus Ribavirine de plus INFpeg).

Malgré la présence de plusieurs traitements, la moitié environ des patients porteurs du VHC sont non répondeurs aux traitements ou présentent une récurrence à l'arrêt de la thérapie à cause des effets secondaires importants, altérant la qualité de vie des patients, et conduisant parfois à l'arrêt prématuré du traitement.

L'objectif de cette étude est d'investiguer les risques hématologiques liés aux traitements anti-VHC chez les patients atteints par l'hépatite virale C dans la région de Tébessa.



Chapitre 01

Synthèse bibliographique

I. VIRUS DE L'HEPATITE C : DONNEES MOLECULAIRES

A .Présentation virologique

1. Classification taxonomique

Le virus de l'hépatite C (VHC) est classé au sein de la famille des *Flaviviridae* dans un nouveau genre créé pour lui nommé *Hepacivirus*, constitué exclusivement de l'ensemble des variantes. Cette famille regroupe les *Flavivirus* (virus de la fièvre jaune, de la dengue ou de l'encéphalite japonaise), les *Pestivirus*, responsables de pathologies animales et les virus des hépatites G (GBV). Tous les virus appartenant à cette famille sont de petits virus enveloppés possédant un génome à ARN simple brin de polarité positive (**Gordien, 2003**).

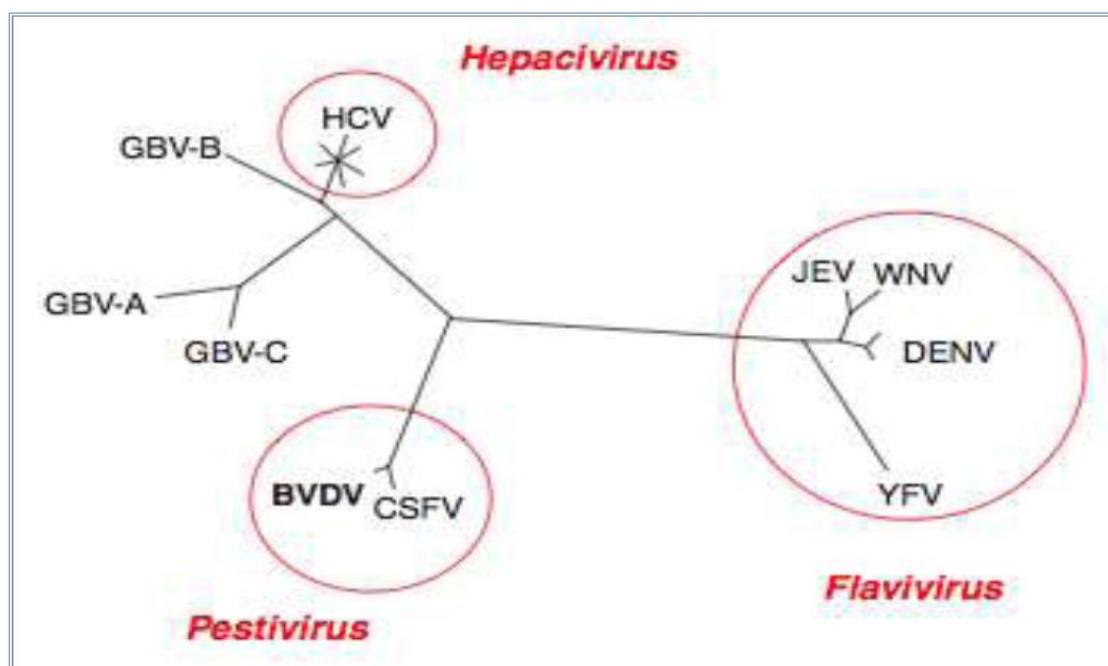


Figure1 :Arbre phylogénétique schématisé des genres et des principaux virus de la famille des *Flaviviridae* (Legrand-Abravanel, 2008).

BVDV : virus de la diarrhée bovine virale, CSFV : virus de la fièvre classique porcine, JEV : virus de l'encéphalite japonaise, DENV : virus de la dengue, YFV : virus de la fièvre jaune, GBV : virus des hépatites G ; HCV : virus de l'hépatite C (**Legrand-Abravanel, 2008**).

2. Particules virales

Le VHC est un petit virus enveloppé de 55 à 65 nm de diamètre, très difficilement visualisé en microscopie électronique. Le génome viral, constitué d'une molécule d'ARN simple brin de polarité positive, est contenu dans une capsidie protéique à symétrie icosaédrique qui est elle-même entourée d'une enveloppe lipidique d'origine cellulaire au sein de laquelle sont ancrées deux glycoprotéines d'enveloppe virales, E1 et E2, organisées en complexes hétéromériques non covalents (**Pawlotsky, 2004**).

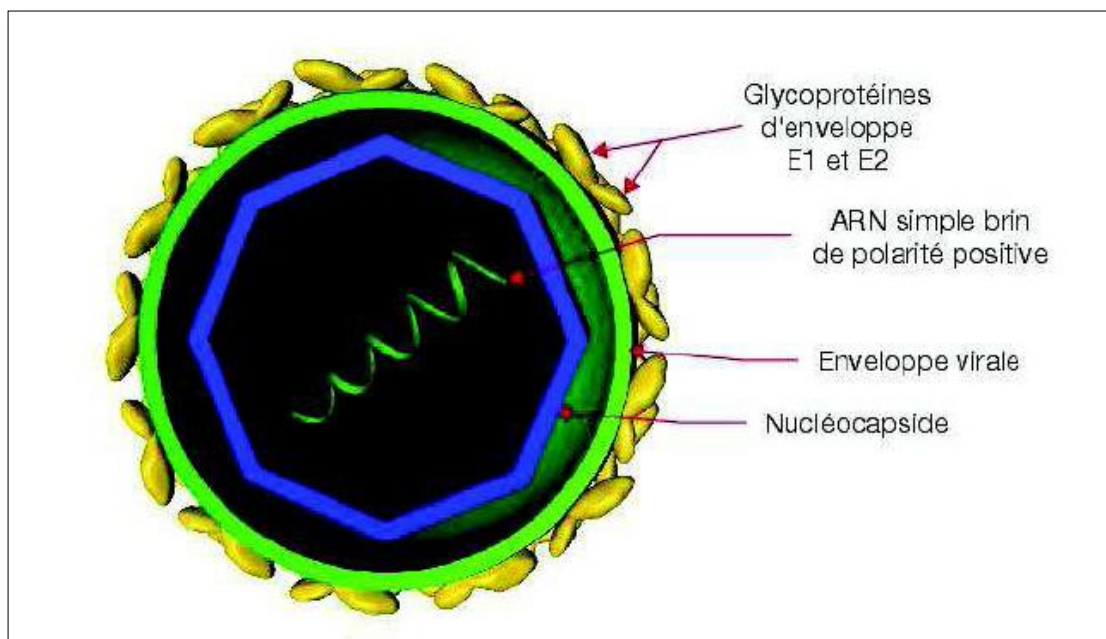


Figure2 : Représentation schématique du VHC (Helle et Cocquerel, 2008).

3. Génome viral

Le génome du VHC est une molécule d'ARN monocaténaire de polarité positive. Il comporte deux régions non codantes : la région 5' non codante (5'NC) et la région 3' non codante (3'NC) flanquant de part et d'autre un seul cadre de lecture ouvert ou ORF. Ce cadre de lecture ouvert code pour une polyprotéine précurseur d'environ 3010 acides aminés (AA)(Peninet *al.*, 2004).

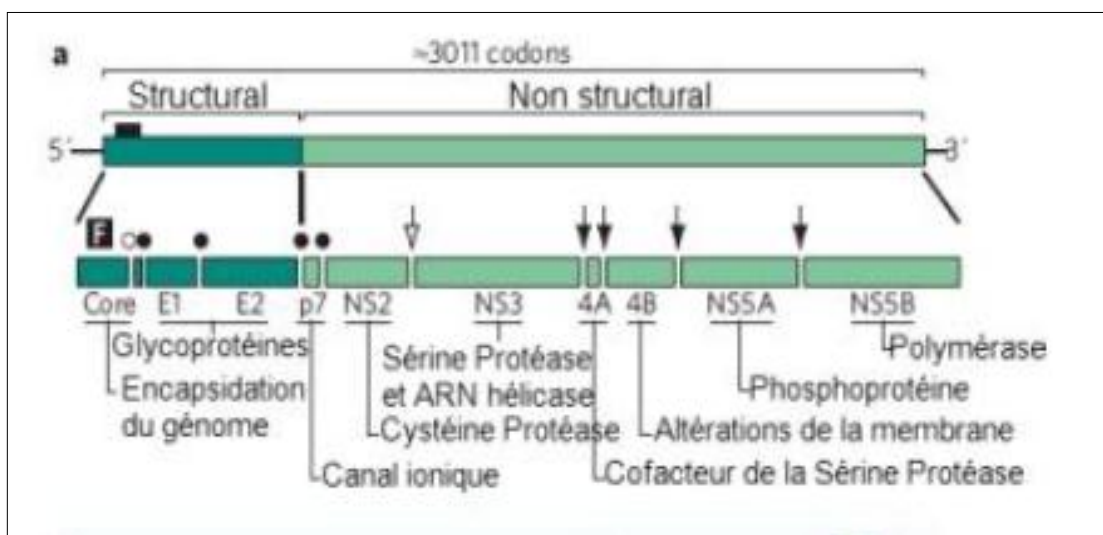


Figure 3 : Organisation du génome viral (Lindenbach et Rice, 2005).

3.1. Les régions non codantes

❖ La région 5'NC

L'extrémité 5' non codante est constituée de 341 à 349 nucléotides selon les isolats. Elle renferme les régions les plus conservées du génome et est impliquée dans la synthèse des protéines virales. Elle a une conformation spatiale repliée en boucle. Son extrémité 5', dépourvue de coiffe méthylée, présente un repli en épingle à cheveux de 27 nucléotides qui jouerait un rôle dans la régulation négative de la traduction des protéines virales. L'extrémité 5' NC renferme également 4 à 5 petits cadres de lectures ouverts, non traduits dont le rôle est inconnu. Cette extrémité comporte également une structure en tige boucle de grande taille qui sert de site d'entrée interne du ribosome (IRES) et qui joue un rôle majeur dans la traduction des protéines virales. L'IRES recouvre les domaines III et IV et les 30 premiers nucléotides du gène codant pour la capsidie (**Grakoui *et al.*, 1993 ; Pawlotsky, 2002**)

❖ La région 3'NC

L'extrémité 3' du génome comporte trois régions successives, de 5' en 3' : (1) une région non traduite d'environ 30 nucléotides, variable d'une souche virale à l'autre ; (2) une région poly-U/C de longueur variable ; (3) une région 3' terminale très conservée de 98 nucléotides, la région X, repliée en trois tiges-boucles successives. La queue poly-U/C et la région X sont essentielles à la réplication du virus *in vivo* (**Kolykhalov *et al.*, 1996**). La région 3' non codante non seulement permet l'initiation de la synthèse du brin négatif de l'ARN viral, mais aurait également un rôle régulateur dans la traduction de l'ORF (**Kolykhalov *et al.*, 1996**).

3.2. Les régions codantes

La région 5' non codante est suivie d'un cadre de lecture ouvert unique débutant par un codon AUG initiateur de la traduction situé au nucléotide 342. Il comporte 9024 à 9111 nucléotides et permet la synthèse d'une polyprotéine qui donne naissance, après une phase de maturation assurée par des protéases cellulaires et virales, à 10 protéines : des protéines structurales (S) dans la partie N-terminale (Capsidie, E1 et E2) et des protéines non structurales (NS) dans la partie C-terminale (p7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A et NS5B). Dans la séquence codante de la séquence de la protéine de capsidie, deux protéines supplémentaires semblent être produites : la protéine F (ou ARFP pour « alternatif Reading frame protein » résultant d'un décalage $-2/+1$ de la phase de lecture principale (**Xu *et al.*, 2001 ; Vassilaki et Mavromara, 2003**), et la protéine « mini Core » dont la production, décrite par des travaux très récents, résulterait d'une seconde activité IRES entre les codons 56 et 154 (**Eng *et al.*, 2007**).

B. Structures et fonctions des protéines virales

Le cadre de lecture de l'ARN code pour une polyprotéine d'environ 3000 acides aminés qui est secondairement clivée par les protéases cellulaires et virales pour générer sept, protéines non structurales (p7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A, NS5B) et trois protéines structurales (une protéine de capsid C et deux glycoprotéines d'enveloppe, E1 et E2) (**Peninet *et al.*, 2004 ; Chooq *et al.*, 1991**).

1. Protéines structurales

1.1. Protéine de capsid ou protéine C

La protéine de capsid est la première protéine produite à partir de l'extrémité C-terminale de la polyprotéine virale ; elle contient une séquence peptide signal à cette position. Cette protéine est hautement conservée et riche en proline et en résidus basiques. Son rôle essentiel consiste en la formation de la nucléocapsid virale. Le signal peptidase virale est responsable du clivage entre la capsid et la glycoprotéine E1 donnant ainsi naissance à la forme « immature » de la protéine basique de 191 AA (**Mclauchlan, 2000**). Ensuite, la maturation se poursuit par un second clivage protéolytique par action de la signal peptidase produisant ainsi la forme « mature » (**Suzuki *et al.*, 1999 ; Mclauchlan *et al.*, 2002**). La protéine C mature s'associe aux gouttelettes lipidiques induisant une accumulation lipidique intracellulaire (**Boulant *et al.*, 2006 ; Jhaveriet *et al.*, 2009**) et elle joue un rôle essentiel dans l'assemblage et la libération des particules virales infectieuses (**Targett-Adams *et al.*, 2008**).

La protéine de capsid mature se divise en deux domaines. Le domaine 1, hydrophile, riche en AA basiques, est inclus dans la liaison avec l'extrémité 5'NC de l'ARN du VHC induisant la formation de la nucléocapsid du virus (**Klein *et al.*, 2005**). Le domaine 2, hydrophobe, permet la maturation, le bon repliement et le maintien de la conformation et de la stabilité du domaine 1 (**Boulant *et al.*, 2005**). La protéine C pourrait être impliquée dans l'expression de plusieurs gènes cellulaires intervenant dans la prolifération cellulaire, l'altération du métabolisme lipidique, la modulation de la réponse immunitaire et l'apoptose (**Nguyen *et al.*, 2006 ; Jackel-Cramet *et al.*, 2007**).

1.2. Glycoprotéines d'enveloppe E1 et E2

Les glycoprotéines d'enveloppe E1 et E2 sont deux protéines transmembranaires de 160 et 334 AA, respectivement. Elles sont constituées d'un domaine N-terminal hautement glycosylé et d'un court domaine transmembranaire C-terminal comprenant une trentaine d'AA hydrophobes. La synthèse et la glycosylation des deux protéines E1 et E2 se font au niveau du REG.

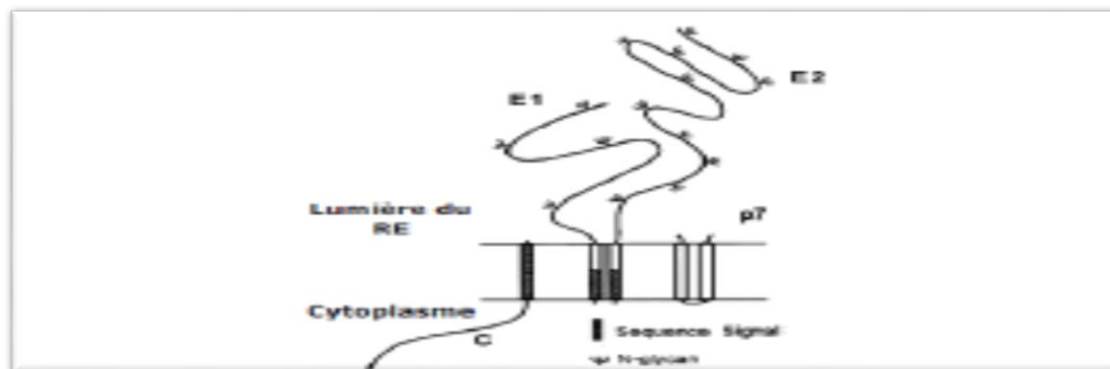


Figure 4 : Représentation schématique des glycoprotéines d'enveloppe E1 et E2 du VHC (d'après Op De Beeket *al.*, 2001).

Ces protéines sont les constituants essentiels de l'enveloppe virale et sont responsables de l'entrée du VHC dans les cellules cibles. Elles permettent la fixation du VHC sur les récepteurs cellulaires spécifiques, induisant ainsi la fusion membranaire de l'enveloppe virale avec la membrane cellulaire de l'hôte, permettant la pénétration du virus dans les cellules cibles (Op De Beeket *al.*, 2001). La protéine E2 renferme deux régions hypervariables appelées HVR1 et HVR2 qui résulteraient de la pression de sélection exercée par le système immunitaire et qui sont à l'origine de variantes d'échappement.

1.3. Protéine p7

La protéine p7 est une petite protéine de 63 AA possédant deux domaines transmembranaires connectés par une petite boucle cytoplasmique, elle est localisée dans la membrane du RE (Haqshenaset *al.*, 2007). Il semblerait que p7 soit essentielle pour l'infection par le VHC mais pas pour la réplication virale. Elle est nécessaire à la sécrétion des particules virales infectieuses (Steinmann *et al.*, 2007).

2. Protéines non structurales

2.1. Protéine NS2

La protéine NS2 est une protéine transmembranaire de 217 AA (résidus 810 à 1026) et de 23 kDa, liée au RE par l'intermédiaire de son extrémité N-terminale hydrophobe. Son extrémité C-terminale forme avec le domaine N-terminal de la protéine NS3, une protéase responsable du clivage protéolytique entre NS2 et NS3. La protéine NS2 est une protéine non essentielle à la formation du complexe de réplication (Lohmannet *al.*, 1999 ; Blightet *al.*, 2000), mais elle joue un rôle dans la formation des particules virales infectieuses suggérant qu'elle pourrait agir dans la morphogénèse du VHC (Jones *et al.*, 2007).

L'analyse de la structure du domaine catalytique NS2 a révélé qu'il s'agit d'une protéase à cystéine dimérique avec deux sites actifs. Les résidus His143 et Glu13 d'un monomère et le résidu Cys184 de l'autre monomère pour chaque site catalytique constituent le site actif de la protéase NS2 (Lorenz *et al.*, 2006). NS2 est une protéine multifonctionnelle. Elle est

indispensable à la formation de la nucléocapside virale ; en se fixant sur E2 et p7, elle permet la libération des glycoprotéines de l'enveloppe. Elle est impliquée dans l'hyperphosphorylation de la protéine NS5A. D'autre part, la région N-terminale de NS2 bloque les promoteurs de certains gènes cellulaires comme celui de l'interféron-beta (IFN- β). Cette protéine a été aussi associée à la perturbation de l'homéostasie des lipides, la modification du cycle cellulaire et la prolifération cellulaire *invitro* permettant ainsi la mise en place d'un environnement cytosolique favorable pour la réplication virale (**Dubuisson, 2007 ; Welbourn et Pause, 2007**).

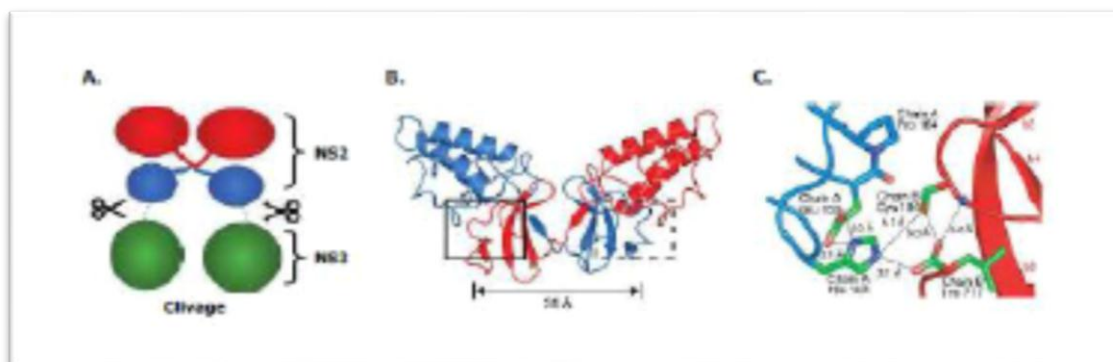


Figure 5 : Structure du domaine NS2 catalytique après clivage par la protéase NS2/3(d'après Lorenz *et al.*, 2006).

A : Modèle d'action de la protéase NS2/3.

B : NS2 sous forme de dimère : un monomère est représenté en rouge et l'autre en bleu.

C : Site actif de la protéase avant le clivage qui nécessite le rapprochement des extrémités C-terminales des deux monomères.

2.2. Protéine NS3

La protéine NS3 est une protéine hydrophile de 70 kDa. C'est une protéine multifonctionnelle qui possède une double activité enzymatique : une activité sérine protéase située dans sa partie N-terminale et une activité hélicase/ATPase localisée dans sa partie C-Terminale.

La partie N-terminale est une sérine protéase qui doit interagir en association avec la protéine NS4A afin d'assurer l'activité enzymatique responsable du clivage efficace de NS3/4A, NS4A/4B, NS4B/5A et NS5A/5B (**Failla *et al.*, 1994 ; Bartenschlager *et al.*, 1995**).

Via son domaine hydrophobe, la protéine NS4A assure à la fois la stabilisation de la protéine NS3 et son adressage dans la membrane du RE (**Wolket *et al.*, 2000**). La sérine protéase NS3 semble également capable d'interagir avec des protéines cellulaires de l'hôte au cours de l'infection.

Le domaine C-terminal possède une activité hélicase/ATPase (**Tai *et al.*, 1996**), cette activité est nécessaire à l'infection *in vivo* (**Kolykhalov *et al.*, 2000**) et à la réplication *in vitro* (**Lam et**

Frick,2006). L'activité hélicase de la protéine NS3 participe à la séparation des ARN double brin ou au déroulement des structures secondaires lors de l'initiation de la réplication, le déplacement des protéines liées à l'ARN ou encore la dissociation de la forme répliquative de l'ARN. De plus, cette activité hélicase est impliquée dans la régulation de la transduction du signal par la protéine kinase dépendante de l'AMP cyclique (PKA), ce qui semble influencer la survie et la prolifération de sa cellule hôte (**Krekulovaet al., 2006 ; Brassetet al., 2008**). Cette protéine est une cible majeure des nouvelles molécules thérapeutiques anti-VHC.

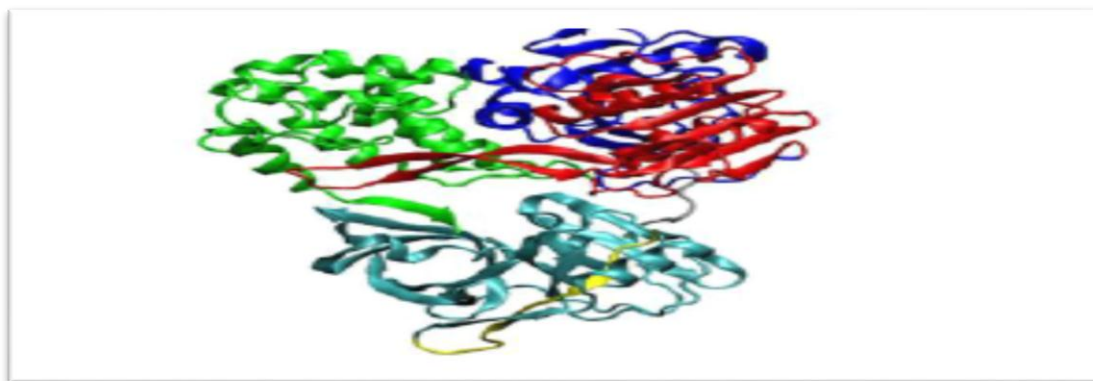


Figure 6 : Structure 3D du complexe NS3/4A.

Data Bank. <http://www.rcsb.org> (code pdb : 1CU1).

Les différentes structures sont représentés par des couleurs différentes : En cyan la protéase (du 1er au 181ème résidu) ; en jaune le cofacteur NS4A (12ème au 24ème résidu) ; en bleu, rouge et vert les domaines I, II et III de l'hélicase ; en argent la séquence liant le domaine protéase au domaine hélicase (linker). Cette structure est issue de la ProtéineData Bank. <http://www.rcsb.org> (code pdb : 1CU1).

2.3. Protéine NS4A

La protéine NS4A est la plus petite protéine non structurale du VHC, c'est une protéine hydrophobe de 54 AA et de 8 kDa. NS4A constitue le cofacteur essentiel de l'activité sérine protéase NS3 permettant ainsi tous les clivages réalisés par cette dernière. Elle permet aussi l'ancrage de NS3 dans la membrane cellulaire du RE. De plus, NS4A joue un rôle important dans la régulation de la phosphorylation de la protéine NS5A (**Koch et Bartenschlager, 1999**).

2.4. Protéine NS4B

La protéine NS4B est une protéine hydrophobe de 270 AA et de 27 kDa. Elle est localisée dans la membrane du RE et ses extrémités N- et C-terminales sont orientées vers le cytoplasme (**Hugleet al., 2001**). L'expression de la protéine NS4B permet la formation d'une structure membranaire multi-vésiculaire dérivée des membranes du RE appelée « membranous web ». Ce réseau membranaire est le siège de la réplication virale (**Eggeret al., 2002**). On y retrouve la protéine NS4B associée aux protéines non structurales dans le complexe de réplication virale.

De plus, il a été montré que des mutations dans le domaine C-terminal de NS4B diminuent la réplication.

2.5. Protéine NS5A

NS5A est une phosphoprotéine hydrophile de 447 AA ancrée dans la membrane du RE. Cette protéine est constituée de trois domaines distincts I, II et III (**Tellinghuisenet al., 2005**). Le domaine I permet la fixation de l'ARN. Il est composé de deux sous-domaines : le sous-domaine IA est riche en AA basiques. Il contient quatre résidus cystéine (Cys 39, Cys 57, Cys 59 et Cys 80) très conservés, fixant un ion zinc nécessaire à la réplication (**Tellinghuisenet al., 2004**). Le sous-domaine IB contient deux autres résidus cystéine (Cys 142 et Cys 190) qui sont reliés par une liaison disulfure. Cette liaison semble être importante pour réduire les contraintes sur les positions des chaînes latérales mais elle a peu d'effet sur la réplication de l'ARN viral. La formation des homodimères par contact entre les deux sous-domaines IA et IB permet la formation d'un sillon basique cytosolique constituant le site d'ancrage de l'ARN (**Tellinghuisenet al., 2005**).

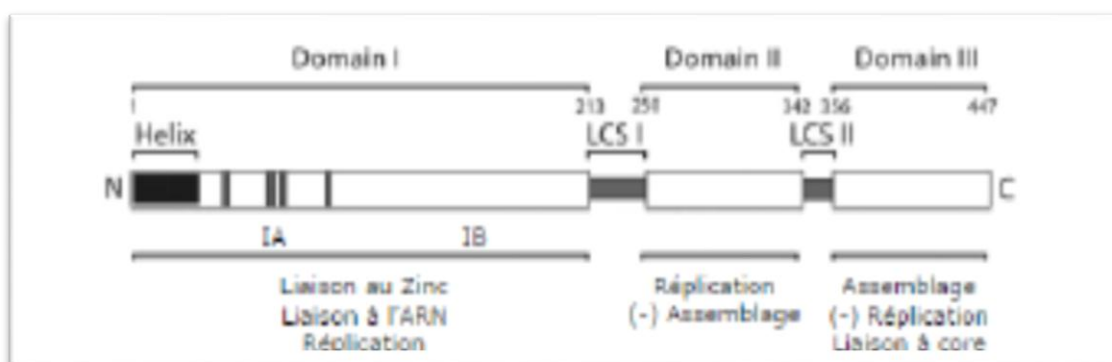


Figure 7 : Représentation schématique de la protéine NS5A (Tellinghuisenet al., 2005).

Les quatre résidus cystéine correspondant au site de coordination de l'ion de zinc sont indiqués par des petites barres dans le domaine I de la protéine. Le domaine II joue un rôle important dans l'inhibition de la protéine kinase (PKR), stimulée par l'IFN en réponse à l'existence de l'ARN double brin dans la cellule (**Gale et al., 1998**) ; le domaine II joue un rôle important dans la réplication virale (**Tellinghuisenet al., 2005**). Des études ont montré que le domaine III intervient dans l'assemblage des particules virales (**Appel et al., 2008**). Ce domaine est l'une des régions les plus variables du génome du VHC.

La protéine NS5A peut être phosphorylée sur plusieurs résidus sérine ; de ce fait, elle peut exister sous deux formes distinctes hypophosphorylée et hyperphosphorylée de masses moléculaires respectives 56 kDa et 58 kDa. L'état de phosphorylation de cette protéine affecte la réplication virale. En raison de son implication dans la réplication et l'assemblage des particules

virales, la protéine NS5A a été identifiée comme une cible majeure pour l'inhibition virale conduisant ainsi, au développement de nouveaux agents thérapeutiques (**Pawlotsky, 2013**).

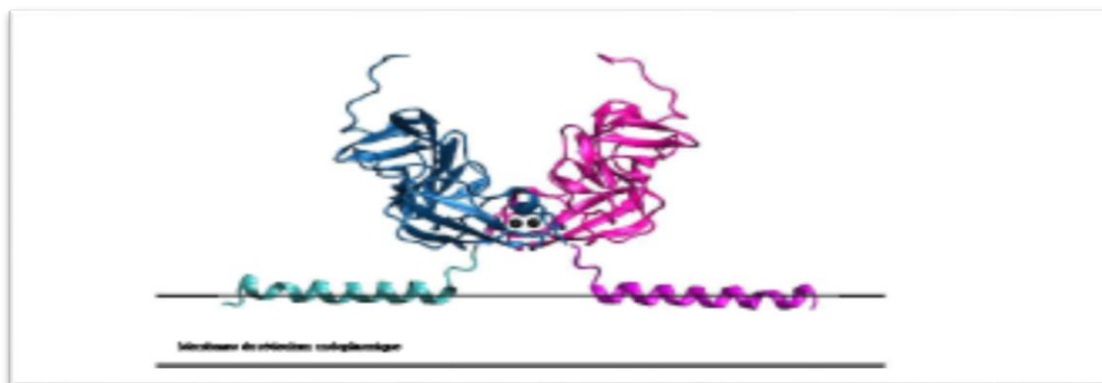


Figure 8: Structure tridimensionnelle de la partie non transmembranaire de la protéine NS5A.

<http://www.rcsb.org> (code pdb : 1ZH1 et 1R7F).

La structure représente le dimère NS5A comportant son domaine I et l'hélice amphiphile. Sa position par rapport à la membrane du RE est indiquée. Les différentes structures sont représentées par des couleurs différentes : en bleu foncé et rose, un dimère de NS5A, domaine I ; en noir l'ion Zn^{2+} ; en bleu clair et magenta les hélices alpha amphiphiles de NS5A. Cette structure est issue de la Protéine Data Bank **<http://www.rcsb.org> (code pdb : 1ZH1 et 1R7F)**.

2.6. Protéine NS5B :

NS5B est une phosphoprotéine membranaire de masse moléculaire 68 kDa, c'est une RdRp qui joue le rôle de catalyseur au sein de la machinerie de réplication virale du VHC. Elle possède un motif en AA très conservé (Gly-Asp-Asp) (G-D-D) caractéristique de toutes les RdRp (**Lohmann et al., 1997**). La structure cristallographique de cette protéine montre une structure en forme de main droite avec des « doigts », un « pouce » et une « paume » (**Bressanelli et al., 1999 ; Bressanelli et al., 2002**). Le site actif enzymatique se trouve au niveau de la « paume », alors que les « doigts » et le « pouce » forment un canal par lequel l'ARN simple brin est directement acheminé au site actif (**Bressanelli et al., 2002**).

L'entrée des nucléotides nécessaire à l'élongation de l'ARN au niveau du site actif se fait via un autre canal chargé positivement. Le domaine transmembranaire C-terminal de la protéine NS5B permet sa fixation à la membrane du RE (**Ivashkina et al., 2002**). Cette fixation de la NS5B à la membrane du RE est nécessaire pour la réplication virale (**Moradpouret et al., 2004**).

Cette protéine est une cible pour le développement des molécules antivirales dirigées contre le VHC (**De Francesco et Migliaccio, 2005**).

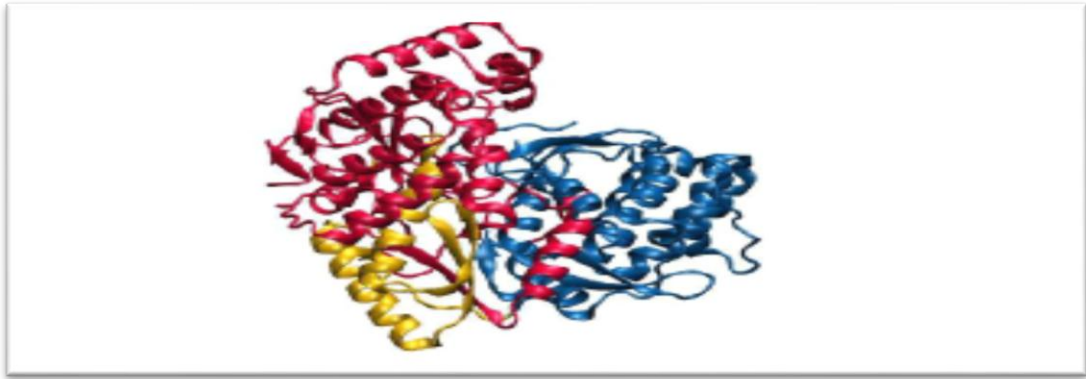


Figure 9 : Structure tridimensionnelle de la région non transmembranaire de la protéine NS5B.

<http://www.rcsb.org> (code pdb : 2FVC).

La structure 3D représente la protéine NS5B dépourvu de ses 23 AA. Ses différents domaines sont représentés par des couleurs différentes : en rouge le domaine « doigt » ; en jaune le domaine « paume » ; en bleu le domaine « pouce ». Cette structure est issue de la Protéine DataBank, <http://www.rcsb.org> (code pdb : 2FVC).

C. Cycle viral et réponse immunitaire de l'hôte

1. cycle viral :

Par analogie avec les autres membres de la famille des *Flaviviridae* et les propriétés fonctionnelles connus des glycoprotéines d'enveloppe, le cycle viral du VHC débute par l'adsorption de la particule virale sur la cellule cible, par la fixation probable sur un ou plusieurs récepteurs membranaires, permettant l'entrée du virus (Dubuisson *et al.*, 2008).

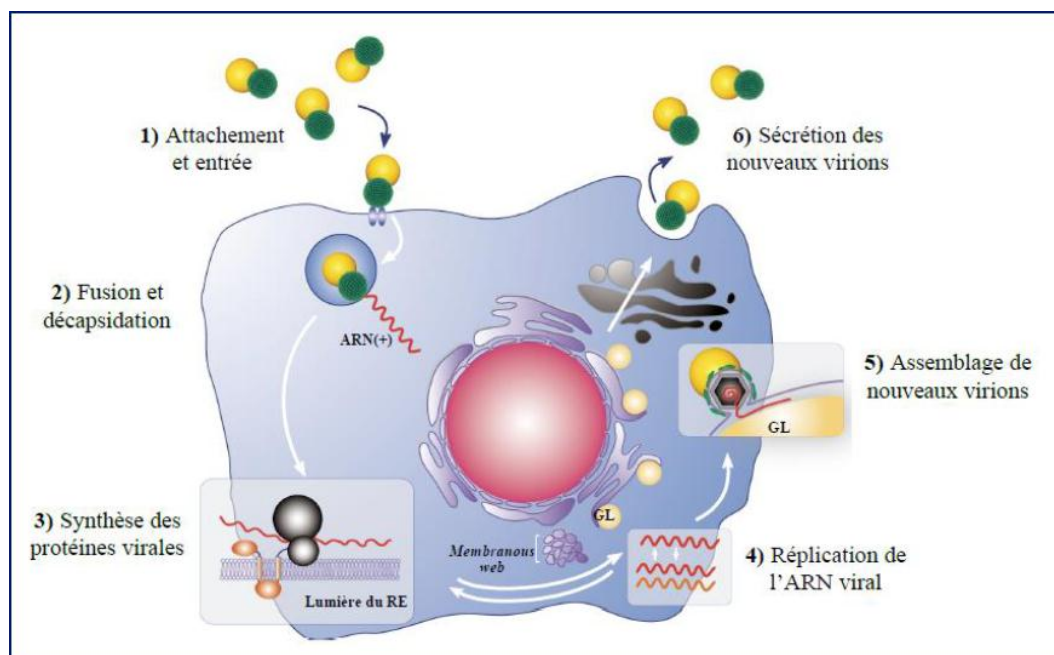


Figure 10 : Cycle Viral du VHC (Dubuisson, 2007).

(1)Attachement du virus et neutralisation ; (2) Relargage cytoplasmique et décapsidation ; (3) Traduction méditée par l'IRES et clivage de la polyprotéine ; (4) Réplication de l'ARN ; (5) Empaquetage et assemblage des virions ; (6) Maturation et excrétion des virions.

1.1. Fixation au récepteur et internalisation

Les glycoprotéines E1 et E2 sont des constituants essentiels de l'enveloppe virale et jouent un rôle important dans l'entrée du VHC dans les cellules cibles. Bartosch et ses collaborateurs ont montré que l'hétérodimère E1-E2 est impliqué dans l'entrée cellulaire du VHC (**Bartoschet al.,2003**). Le domaine de liaison au récepteur CD81, situé sur E2, assure le bon repliement de cette glycoprotéine lui permettant de jouer son rôle comme facteur d'entrée cellulaire du VHC. D'autre part, cette glycoprotéine contient une région hypervariable appelée « HVR1 » présentant une séquence très hétérogène permettant au virus d'échapper au système immunitaire et donc de persister chez son hôte (**Von Hahn et al., 2007**). Les travaux de Scarselli et al ont montré que la région HVR1 est impliquée dans l'interaction du virus avec le récepteur scavengerSR-BI(**Scarselliet al., 2002**). D'autres régions hypervariables sont décrites dans la littérature comme pouvant jouer un rôle dans l'entrée cellulaire du VHCtelles que les régions hypervariables 2 et 3, appelées « HVR2 » et « HVR3» (**Roccasaccaet al.,2003 ;Troeschet al., 2006**). La glycoprotéine E1 joue un rôle dans la fusion et l'internalisation du virus dans la cellule cible (**Lavilletteet al., 2007**).

Une organisation séquentielle de la cascade des évènements permettant l'entrée du VHC dans la cellule hôte a pu être établie. Cette organisation est résumée dans la Figure ci-dessous.

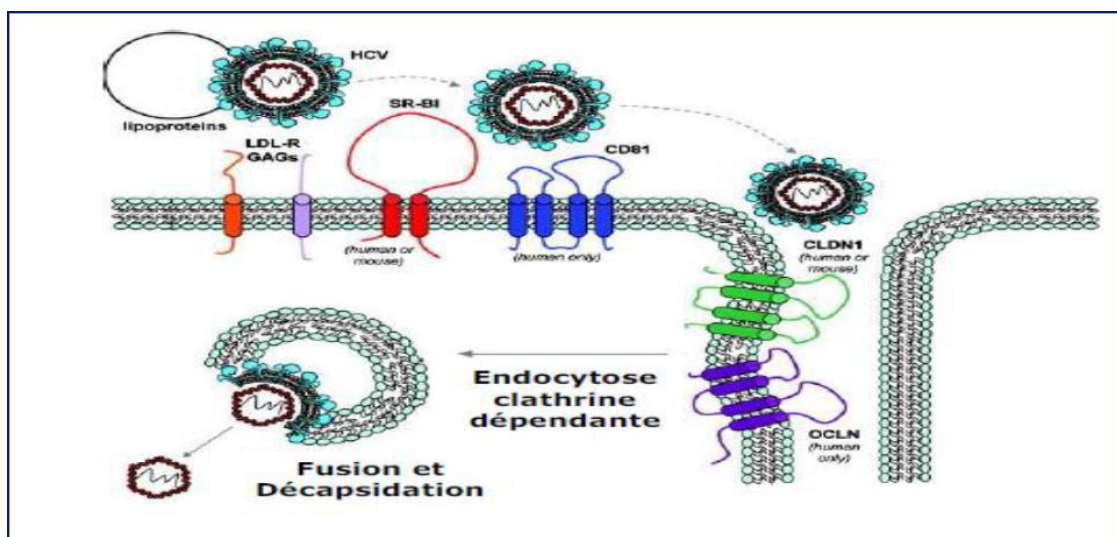


Figure 11 : Modèle d'entrée du VHC (Eyre *et al.*, 2009).

Le récepteur des LDL « LDL-R » et les glycosaminoglycanes « GAGs » facilitent la fixation initiale du VHC sur les cellules hôtes via une interaction directe avec les glycoprotéines d'enveloppe E1 et E2 ou à travers les lipoprotéines. Cette fixation initiale permet à la particule

virale de réagir avec différents récepteurs cellulaires spécifiques tels que « SR-BI » « CD81 » « CLDN1 » et « OCLN ». Différents agents stimulent l'entrée du VHC comme les lipoprotéines de haute densité « HDL » qui facilite la fixation cellulaire du VHC. D'autres inhibent cette étape comme la protéine EWI-2wint, l'Apolipoprotéine sérum amyloïde A « SAA », les LDL oxydées « LDLox » ainsi que la lipoprotéine lipase « LPL ». Enfin la particule virale est internalisée par endocytose dépendante de la clathrine.

1.2. Internalisation et fusion de la particule virale

L'internalisation des virus enveloppés dans la cellule cible peut se faire selon deux façons : soit par endocytose de la particule virale et fusion de l'enveloppe virale avec la membrane de l'endosome, soit par fusion de l'enveloppe du virus avec la membrane cellulaire (Sollner, 2004). Il a été montré que l'entrée du VHC dans la cellule hôte se fait à travers une voie d'endocytose dépendante de la clathrine. Sous l'effet d'un pH acide, la membrane virale et la membrane endosomale fusionnent et libèrent le génome viral dans le cytoplasme (Blanchard *et al.*, 2006 ; Meertens *et al.*, 2006).

1.3. Traduction de la protéine virale

Après sa libération dans le cytosol, l'ARN viral est traduit afin de donner naissance à une polyprotéine précurseur d'environ 3010 AA. La traduction de l'ARN du VHC est assurée par la présence de l'IRES situé au niveau de la région 5'NC. L'IRES forme une structure tertiaire complexe organisée en trois domaines (II, III, IV). Il permet l'entrée de la petite sous unité 40S du ribosome et assure sa fixation sur la méthionine initiateur (AUG) au niveau du domaine II. L'IRES favorise ensuite la liaison du facteur d'initiation eucaryote « eIF3 ».

L'étape suivante est la fixation, de manière GTP-dépendante, de la grande sous-unité 60S pour former le complexe d'initiation de la traduction 80S (Fraser et Doudna, 2007).

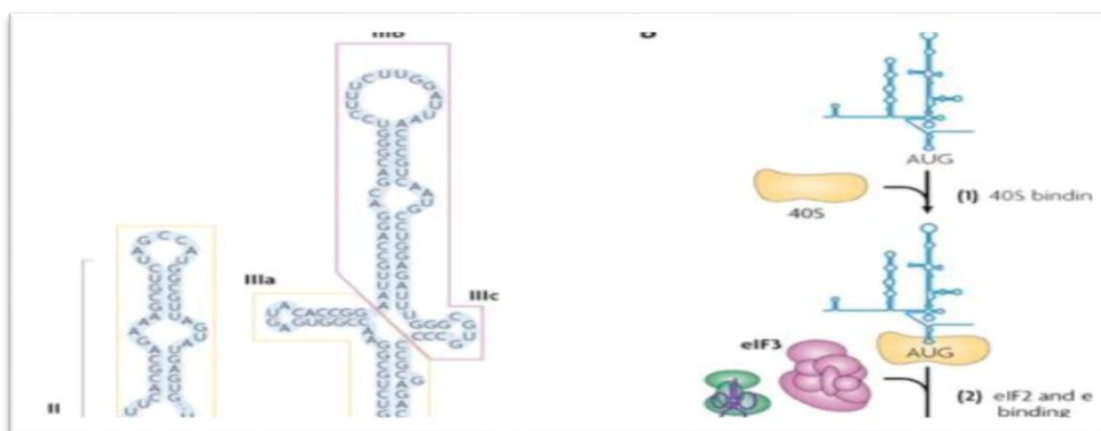


Figure 12 : Modèle de formation du complexe d'initiation de la traduction (Fraser et Doudna, 2007).

a) La structure secondaire de la région 5'NC du VHC comprend 4 domaines notés de I à IV.

L'IRES inclut les domaines II, III et IV. Les domaines importants pour la fixation du complexe 40S sont encadrés en jaune et le site de fixation pour le facteur d'initiation « eIF3 » est encadré en magenta. Le codon AUG est en rouge.

b) L'initiation de la traduction à partir de l'IRES du VHC commence avec le recrutement de la sous-unité 40S du ribosome directement sur l'IRES en absence des facteurs d'initiation. Ensuite « eIF3 » et le complexe Met-tRNAi/eIF2-GTP sont recrutés à la surface de la sous-unité 40S du ribosome.

L'hydrolyse du GTP permet ensuite le recrutement de la sous-unité 60S pour former le complexe d'initiation de la traduction 80S.

1.4. Maturation et clivages protéolytiques de la polyprotéine

La polyprotéine précurseur subit la maturation Co- et post-traductionnelle à travers des protéases virales et cellulaires pour donner naissance aux protéines structurales et non structurales. Le signal peptidase du RE assure le clivage protéolytique des protéines structurales c'est-à-dire les glycoprotéines d'enveloppe E1 et E2, la protéine C et la protéine p7. Il existe deux protéases virales, la protéase auto-catalytique NS2/3 et la protéase NS3/4, qui assurent le clivage des protéines non structurales. Tous ces clivages se réalisent au niveau de la membrane du RE où se localisent les protéines du VHC.

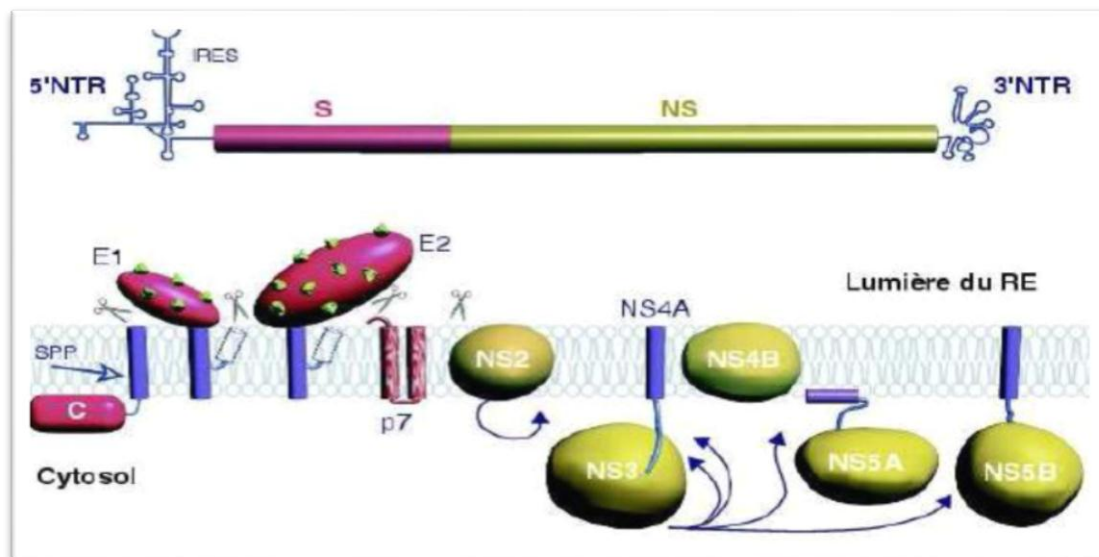


Figure 13 : Organisation du génome, maturation de la polyprotéine précurseur du VHC et localisation des protéines au niveau du RE (Peninet *al.*, 2004).

1.5. Réplication de l'ARN viral

La libération des protéines structurales et non-structurales, suite à la maturation de la polyprotéine précurseur du VHC, permet l'initiation de la réplication et la formation du complexe de réplication. La réplication de l'ARN du VHC de polarité positive débute par la

synthèse d'un ARN complémentaire de polarité négative. Celui-ci servira de matrice pour la synthèse d'un nouveau brin de polarité positive. La protéine non-structurale NS5B grâce à son activité RdRp catalyse la réplication virale de l'ARN génomique du VHC.

1.6. Assemblage et libération des particules virales

Lors de l'étape d'assemblage, les ARN du VHC produits forment des virions qui seront libérés dans le milieu extracellulaire par exocytose (Popescu et Dubuisson, 2009).

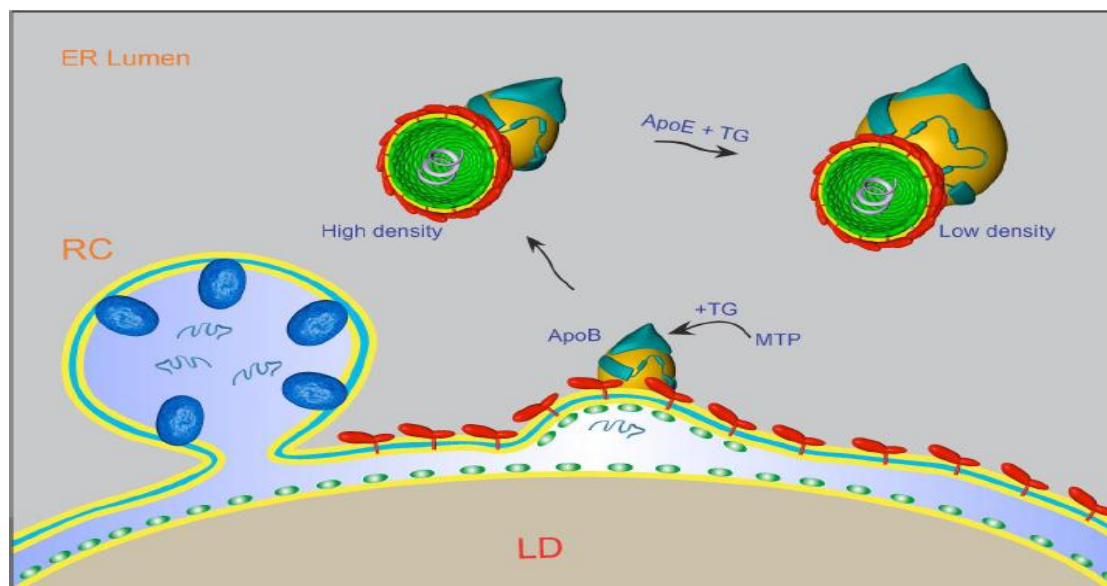


Figure 14 : Modèle proposé pour l'assemblage du VHC (Popescu et Dubuisson, 2009).

L'association de la protéine de capsid (vert) avec des gouttelettes lipidiques (LD) et le recrutement de complexe de réplication (RC) sont essentiels. L'interaction de la protéine de capsid avec l'ARN viral déclenche le bourgeonnement des virions arborant les glycoprotéines d'enveloppe (en rouge). L'assemblage des virions est dépendant de la machinerie de formation des VLDL. La protéine microsomale de transfert (MTP) permet la lipodation de l'apolipoprotéine B (Apo B), ce qui conduirait à la formation de particules infectieuses de forte densité (high density). Une seconde étape de lipodation impliquant la MTP et l'apolipoprotéine E (Apo E) permettrait la formation de particules infectieuses de faible densité (low density).

Il est probable que l'assemblage des particules virales soit déclenché par interaction entre l'ARN viral et la protéine de capsid permettant ainsi la formation de la nucléocapsid (Roingard et Hourieux, 2008). A l'intérieur du RE, les virions semblent être formés par bourgeonnement ; ils sont ensuite libérés par voie d'exocytose. D'autre part, différentes études ont montré que les protéines NS2 et p7 jouent un rôle important dans la production de particules virales infectieuses (Jones *et al.*, 2007 ; Yi *et al.*, 2009).

2. Tropisme :

Le VHC est un virus principalement hépatotrope mais plusieurs études ont montré que des séquences d'ARN du VHC pouvaient être détectées par PCR dans des cellules mononuclées du sang périphérique (lymphocytes B, T et cellules monocytaires). Ces observations permettent de penser qu'il existerait des réservoirs secondaires du VHC qui seraient responsables des manifestations extra-hépatiques, à l'origine de variante et surtout de la persistance virale notamment observée lors des réinfections des foies greffés après transplantation (**Leratet al., 1998**). Des IRES avec des séquences lymphoïdes ont notamment été identifiées et semblent confirmer cette hypothèse (**Leratet al., 2000**).

3. Récepteurs biologiques du VHC

3.1. 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 moléculaire. 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 (**Germiet al., 2001 ; Pawlotsky, 2002, Witteveldtet al., 2002**).

3.2. Les récepteurs des lipoprotéines de basse densité (RLDL)

Les analyses 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. (**Germiet al., 2001 ; Pawlosky, 2002**).

3.3. Le récepteur scavengertype B classe 1 (SRB1/Cla-1)

Le SR-B1 (HumanScavengerReceptor 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 (**Scarsellietal., 2002**).

4. Réactions immunitaires et mécanismes d'échappement du virus

Après infection aiguë par le VHC, 70 à 80 % des malades évoluent vers la chronicité, l'infection persiste alors qu'une réponse immune cellulaire et humorale se développe en périphérie et dans le foie .de nombreuses études ont exploré les diverses hypothèses physiopathologique. Elle essentiellement le fait de mesures *in vitro* et leur validité chez les malades infecte reste parfois difficile. Il est vrai semblable que les différents mécanismes

intriquent pour aboutir à l'échec des réponses immunes contrôle la réplication du virus et sa propagation hépatiques (**Jean et Claude, 2002**).

4.1. La réponse immunitaire non spécifique

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 (**Jean et Claude, 2002**).

4.2. Réponse humorale anti-VHC

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 capsid 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**).

4.3. La réponse cellulaire anti-VHC

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 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**).

4.4. 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 des 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**).

4.5. Facteurs génétiques liés à l'hôte

Des facteurs génétiques liés à l'hôte infecté pourraient influencer la nature de la réponse immune et l'issue de leur interaction avec le virus. Il existe des arguments cliniques et expérimentaux en faveur de cette hypothèse. Ainsi, certains malades contaminés après accident d'exposition au sang ont développé une immunité cellulaire anti-VHC sans qu'apparaissent dans le sérum des anticorps anti-VHC ou de l'ARN du VHC (**Ando et al., 1997**).

Des observations comparables ont été décrites dans des expériences d'infection chez le chimpanzé, éliminant spontanément le VHC parallèlement à une disparition de l'immunité humorale anti-VHC (**Koziel et Walker, 1997**). Enfin, le fait que la prévalence des manifestations extra-hépatique auto-immune associée au VHC puisse varier selon des facteurs ethniques suggère également l'existence de facteurs génétiques dans la pathogénie de l'hépatite virale C. (**Lingren et al., 1997 ; Lenzi, 1998**).

Le système HLA a été particulièrement étudié. Des déséquilibres de liaison ont pu être démontrés entre des haplotypes HLA chez les malades avec clairance virale (**Kramp et al., 1998 ; Minton et al., 1998**) ou avec progression limitée des lésions hépatiques (**Kuzushita et al., 1996 ; Aikawa et al., 1996**). Ainsi, l'allèle DQB1*0310 est plus fréquemment associé à la

clairance virale et à une maladie hépatique moins évolutive. En revanche, les études n'ont pas permis d'identifier d'haplotypes caractéristique de l'ineffectivité VHC dans la population générale (Nelson *et al.*, 1997 ; Hiroishiet *al.*, 1997 ; Kinget *al.*, 1988 ; Lobigset *al.*, 1996). Toutefois, chez les polytransfusé, comme notamment les malades thalassémiques, des allèles ont été identifiés en association avec l'absence de contamination VHC, malgré le risque élevé auquel ces malades avaient été soumis (Alteret *al.*, 1989 ; Farci *et al.*, 1996 ; Liawet *al.*, 1995 ; Laiet *al.*, 1994). Il est donc possible que plusieurs allèles HLA puissent jouer un rôle dans l'infection VHC ou que ces allèles soient en déséquilibre de liaison avec d'autres gènes.

D. Génétiques

1. Variabilité génétique ou quasi-espèces

Le VHC, comme tous les virus ARN, présente une grande variabilité génomique liée en grande partie aux erreurs de transcription de l'ARN polymérase (Chooqet *al.*, 1991 ; Pawlotsky, 2002)

La diversification permanente des populations virales conduit à leur compétition et à la sélection continue des variants viraux les mieux adaptés à leur environnement répliatif. Ce phénomène est favorisé par l'abondante production virale, de l'ordre de 10^{12} virions par jour en moyenne, au cours de l'infection humaine (Neumann, 1998) et par le taux élevé de mutations, au cours de la réplication, lié au manque de fidélité de l'ARN polymérase (Domingo, 1998 ; Duarte *et al.*, 1994). Le taux d'erreur de l'ARN polymérase ARN dépendante du VHC est en effet de l'ordre de 10^{-4} à 10^{-5} par nucléotide copié. Chaque nouvel ARN synthétisé contient donc en moyenne une substitution nucléotidique par rapport à sa séquence mère (Domingo *et al.*, 2006). Ces erreurs ne sont pas corrigées par l'ARN polymérase virale car celle-ci est dénuée d'activité 3'-5' exonucléase correctrice (activité de proof Reading). Les substitutions s'accumulent donc dans le génome au cours des cycles de réplication successifs. La majorité des séquences virales synthétisées au cours de la réplication sont défectives (c'est-à-dire qu'elles ne peuvent conduire à la production de virions infectieux), car la plupart des mutations survenant au hasard sont létales. Les mutations non létales sont quant à elles transmises à la descendance et s'accumulent au fil des générations. Elles peuvent conférer aux variants correspondants des avantages ou des désavantages sélectifs selon l'environnement au sein duquel le virus se réplique (Domingo, 1998 ; Domingo *et al.*, 2006 ; Duarte *et al.*, 1994). On parle alors de « genetic bottleneck », un phénomène bien connu pour chez les virus à ARN.

La production et la sélection permanente de nouveaux variants viraux ont trois conséquences importantes : l'émergence, dans des zones géographiques ou dans des populations de malades particulières, des génotypes du VHC et leur diversification intervenue au cours de l'évolution

et qui se poursuit, l'existence d'une distribution en quasi espèces de populations virales chez chaque individu infecté et au final des implications cliniques. (Amaury, 2007).

2. Génotype

L'analyse phylogénétique de séquences partielles ou complètes de souches virales isolées dans les cinq continents a permis d'identifier 6 groupes principaux, appelés « types », numérotés de 1 à 6 et plus d'une centaine de « sous- types », identifiés au sein de chaque type par une lettre minuscule : 1a, 1b, 1c, etc. (Robertson, 1998). Le terme « génotype » désigne indifféremment l'ensemble des types et sous-types. Les types diffèrent les uns des autres par 31 à 34 % de leur séquence nucléotidique et environ 30% de leur séquence amino-acidique. Les sous-types diffèrent les uns des autres par 20 à 23% de leur séquence nucléotidique avec des différences importantes selon la région du génome considéré (Robertson, 1998). Des niveaux de divergence intermédiaires entre type et sous-type ont été observés chez des variants viraux isolés principalement en Asie du Sud-Est. Ces derniers ont été initialement appelés types 7 à 11 (Tokita *et al.*, 1994).

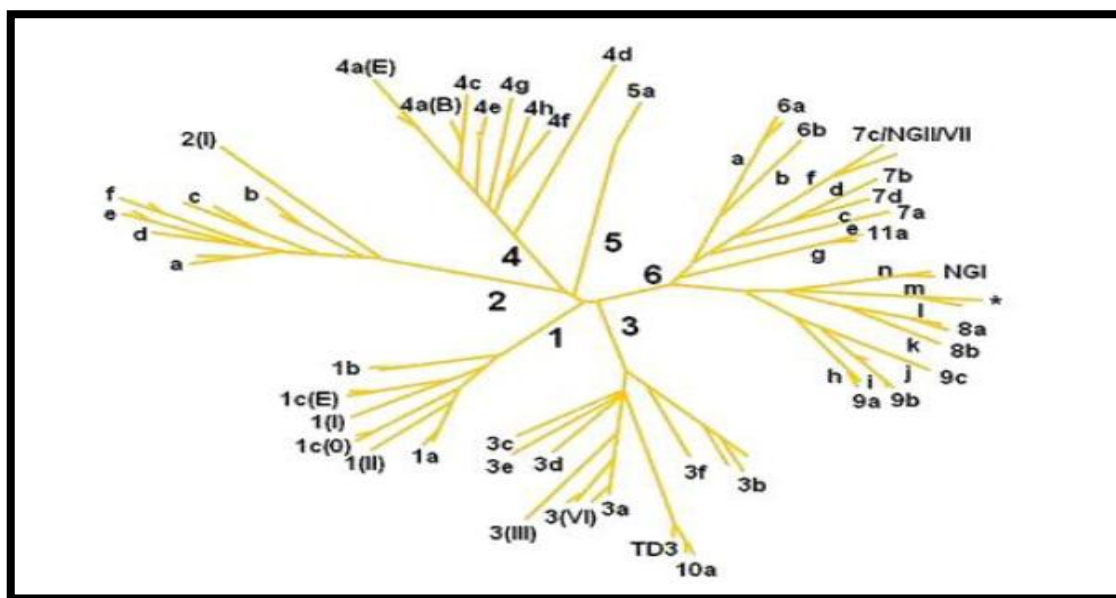


Figure 15 : Analyse phylogénétique des séquences nucléotidiques d'une partie de NS5B (Fang *et al.*, 1997).

3. 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, dont la France, les génotypes les plus fréquents sont les génotypes 1 (1a et 1b), 2 (2a, 2b, 2c) et 3 (3a). 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 (**Morice *et al.*, 2003**).

II.LE VIRUS DE L'HEPATITE C : DONNEESEPIDEMIOLOGIQUES ET CLINIQUES

A.Epidémiologie de l'hépatite C

1. Au niveau mondial

L'infection par le virus de l'hépatite C est un problème majeur de santé publique. L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) estime qu'actuellement plus de 170 millions de sujets seraient porteurs du virus dans le monde, soit environ 3% de la population mondiale.

On distingue trois zones schématiques de séroprévalence :

- Une zone de basse endémicité avec moins de 0,5% de séroprévalence : pays scandinaves, Australie, Canada, Suisse, Espagne, Portugal, Allemagne et Italie.
- Une zone de prévalence intermédiaire autour de 1% : Europe de l'Ouest et Etats-Unis.
- Une zone de forte endémicité avec une séroprévalence supérieure à 2% : Europe de l'Est, Asie, Afrique et Amérique du Sud. (**Soussanet *et al.*, 2010**).

Il existe un gradient entre le nord et le sud. Dans les pays du nord, la prévalence est de 0,5 % tandis que dans les pays du pourtour méditerranéen, elle est de plus de 2 %. Cette différence est liée par le taux de transmission nosocomiale et l’usage de drogue (**Takada *et al.*,1993**) . Dans des pays de forte endémie comme l’Egypte (18,1 %) (**Plancoulaine *et al.*,2008**).

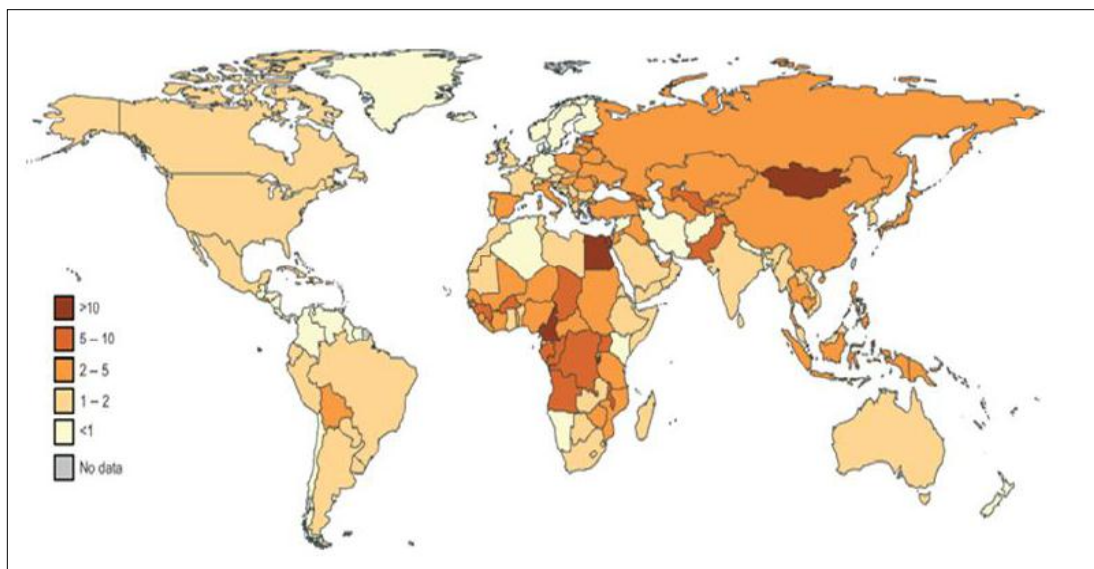


Figure 16 : prévalence mondiale de VHC 2010(OMS).

2. La situation en Algérie

L'incidence des hépatites virales, tous types confondus, a augmenté : elle est passé de 8,89 à 10,37 cas pour 100.000 habitants. L'hépatite viral b est l'hépatite la plus déclarée ; elle représente 46% de l'ensemble des cas, suivie de l'hépatite virale a (29%) et enfin de l'hépatite viral c (25%). (**Rapport du laboratoire national de référence du l'hépatite c – institut pasteur d'Algérie**). La wilaya de Naama reste la wilaya la plus concernée avec une incidence maximale de 24,61 cas pour 100.000 habitants (18,71 en 2006). Les taux les plus élevés sont observés durant les mois de janvier, février et octobre avec respectivement 4,10 -4,79 et 4,10 cas pour 100.000 habitants. (**Benhabyleset al., 2007**).

La wilaya d'Ain t'émouchent enregistre une incidence nettement supérieure à celle de l'année précédente ; elle a été multipliée 3 : 12,65 cas en 2007 versus 4,20 cas pour 100.000 habitantes en 2006. On note une élévation du taux régional durant la saison automnale avec un pic en octobre et en décembre de 1,81 cas pour 100.000 habitants (**Benhabyleset al., 2007**).

Les autres wilayas touchées sont Bouira (10,72), Sétif (8,95), Tébessa (8,21), Saïda (7,14) et Ghardaïa (6,47). La classe modale est représentée par les 5_9 ans avec 12, 93 cas pour 100.000 habitants. L'incidence annuelle de l'hépatite virale C est stationnaire avec 2,62 cas pour 100.000 habitants (**Benhabyleset al., 2007**).

Comme pour les années précédentes, ce sont les wilayas des hauts plateaux et du sud qui notifient les taux régionaux les plus importantes: Souk Ahras (38,68), Tébessa (29,46) , Illizi (13,10) , Sidi Bel Abbès (11,85) , Ouargla (10,28) , et Oum Le Bouaghi (9,83) .les taux

spécifique à l'âge le plus élevés sont observés chez les 40_49 ans (7,47) et les 60 ans et plus (8,76) .(Benhabyleset *al.*, 2007).

3 .Mode de transmission

3.1. Transmissions parentérales transfusionnelle

3 .1.1. Transfusions sanguines

La transfusion sanguine a été la première cause reconnue et a joué un rôle majeur pour la diffusion de l'infection jusqu'en 1990 (Alter *et al.*, 1989; Donahue *et al.*, 1992). Le nombre de sujets infectés par voie intraveineuse en France au cours des dernières décennies a été estimé entre 200 000 et 400 000. Les produits en cause étaient surtout des produits labiles (globules rouges, plaquettes et fractions coagulantes) et des produits stables (médicaments dérivés du sang). La mise en application de mesures réglementaires spécifiques ont permis de considérablement réduire l'incidence de ces hépatites transfusionnelles (Pillonel et Laperche, 2001).

3.2. Transmission parentérale non transfusionnelle

3.2.1. Toxicomanie intraveineuse

Cette modalité de diffusion a explosé à partir des années 1960 dans une population jeune et masculine (Roudot- Thoravalet *al.*, 1997). La prévalence chez les anciens usagers de drogues intraveineuses était de l'ordre de 50 % à 80 % (Foutrein *et al.*, 1993).

3.2.2. Les transmissions nosocomiales

Sont également un facteur de risque important dans les unités de soins à risque (hémodialyse par exemple) mais sont en nette diminution du fait de l'amélioration du respect des Précautions standard (Olivier et Claudine, 2013).

La transmission nosocomiale a été très fréquente lorsque les injections étaient effectuées avec du matériel mal stérilisé ou à usage multiple (l'abandon des seringues en verre ne s'est fait en France qu'à partir des années 1970 et plus tard dans d'autres pays méditerranéens). Le rôle des actes chirurgicaux est bien documenté et la transmission de médecins vers les patients paraît exceptionnelle (Desenclos, 2003; Shepard *et al.*, 2005).

3.2.3. Transmission professionnelle

Elle est estimée à 3% après une piqure accidentelle et est susceptible d'atteindre 10% lorsque la virémie est très élevée. Fort heureusement, on assiste à une réduction de la fréquence des cas en raison des précautions préconisées dans la lutte contre le VHC (Lot *et al.*, 2005).

3.3. Transmission non parentérale dite sporadique

3.3.1. Transmission sexuelle

La **transmission sexuelle** est très faible, mal documentée et mal comprise. En effet, le VHC n'est présent qu'à l'état de traces dans les sécrétions sexuelles et les risques de transmission au sein des couples stables en l'absence d'une co-infection VIH semblent exceptionnels à partir de porteurs chroniques. Dans le cas de contamination partenariale, on peut s'interroger sur un facteur de risque commun au couple (toxicomanie,...) ou sur les risques liés au partage d'objets de toilette contaminés (**Zylbergberg et al., 1999**).

3.3.2. Transmission verticale de la mère à l'enfant

La transmission de l'hépatite C de la mère à l'enfant a bien été décrite, mais elle se produit relativement rarement et uniquement chez les femmes qui sont positives pour l'ARN du VHC au moment de l'accouchement, le risque de transmission dans ce contexte étant d'environ 5 % en l'absence de co-infection par le VIH, mais il pourrait atteindre 10 % en ne prenant en compte que les mères virémiques (**Pembrey et al., 2005**). En cas de séropositivité à la fois pour le VHC et pour le VIH au moment de l'accouchement, le risque de transmission au nouveau-né d'hépatite C est d'environ 20 à 30 % (**Tovo et al., 1997**).

B. Histoire naturelle de l'infection par le VHC

Après la contamination par le virus de l'hépatite C et une phase d'incubation qui dure en moyenne 4 à 12 semaines, survient la phase aiguë de l'infection. Au cours de cette phase, le plus souvent asymptomatique (**Ledinghen, 2002**).

1. Infection aiguë

L'apparition d'une hépatite aiguë, suite à une contamination, survient après une période d'incubation durant en moyenne 4 à 12 semaines (**Marcellin et al., 2004**). Le premier marqueur de l'infection par le VHC est l'apparition de l'ARN viral. Celui-ci est détectable dans le sérum une à trois semaines après la contamination. En revanche, l'augmentation des transaminases sériques survient au-delà du 15^{ème} jour et elles sont souvent supérieures à 10 fois la normale. Les anticorps anti-VHC apparaissent dans le sérum 20 à 150 jours après la contamination. Cette séroconversion est l'élément majeur du diagnostic de l'infection aiguë qui est souvent fortuit et parfois fait à un stade tardif de la maladie. L'infection aiguë par le VHC est cliniquement inapparente dans la plupart des cas, seuls 10% des patients présentent des symptômes cliniques 2 à 12 semaines après la contamination (**Grando et Trinchet, 2003**).

L'infection est dans la plupart des cas (80%) anictérique et asymptomatique, mais chez une minorité de patients (20%), elle est ictérique et dure généralement de 2 à 12 semaines. Ces patients présentent des symptômes tels que fatigue, nausées, douleurs de l'hypochondre droit, qui sont semblables à ceux observés au cours d'autres hépatites aiguës virales. Du fait de

l'absence ou du non spécificité des symptômes, le diagnostic clinique de l'hépatite aiguë C est rarement fait. Il sera essentiellement fondé sur les tests virologiques (**Marcellin et al., 2004**).

L'évolution de l'hépatite aiguë dépend essentiellement de l'intensité et de la persistance de la réponse immune cellulaire médiée par les lymphocytes T. C'est ainsi que dans 20 % des cas, l'infection aiguë évolue spontanément vers la guérison, qui est définie par l'absence de détection de l'ARN viral dans le sang au-delà de 6 mois après l'infection aiguë et la présence d'anticorps anti-VHC, et dans 80 % des cas, on observe une évolution vers une infection chronique (**Grando et Trinchet, 2003**).

2. Infection chronique

Dans environ 80% des cas, l'infection par le VHC persiste plus de six mois et évolue vers la chronicité. L'hépatite C chronique est définie par une virémie persistante qui se traduit par la présence durable de l'ARN viral dans le sérum et une augmentation des taux de transaminases sériques au-delà de six mois après l'infection (**Barrera et al., 1995**). Cette hépatite chronique est asymptomatique dans la majorité des cas, mis à part une importante fatigue. Plusieurs facteurs tels que l'âge, le sexe, la co-infection VIH ou VHB, l'excès de poids peuvent influencer sur l'évolution de l'infection (**Paccagnini et al., 1995**). La persistance de l'infection peut conduire chez 10 à 20% des patients chroniquement infectés au développement d'une cirrhose du foie (**Gale et Foy, 2005**).

2.1. Cirrhose du foie

La cirrhose du foie induite par l'hépatite C chronique peut rester silencieuse pendant plusieurs années. En effet, cette cirrhose, habituellement asymptomatique, est le plus souvent découverte lors d'une échographie ou autre explorations radiographiques. Histologiquement, la cirrhose est une fibrose importante diffuse entourant des nodules de régénération. Cette cirrhose est due à la destruction progressive des hépatocytes et aux mécanismes antiviraux de type inflammatoire aboutissant à la perte de l'architecture normale du foie (**Pol et Zylbergberg, 2000**).

2.2. Carcinome hépatocellulaire

Après 20 ou 30 ans, la cirrhose du foie évolue à son tour en Carcinome Hépatocellulaire dans 1 à 4% des cas (**Pol et Zylbergberg, 2000**). Le CHC est la plus fréquente tumeur maligne et primitive du foie. Les protéines virales telles que la protéine C jouent un rôle important dans la dérégulation des réponses de la cellule hôte. Aucune signature spécifique pouvant expliquer l'oncogénèse provoquée par le VHC n'a été mise en évidence. En termes d'incidence, le CHC est le cinquième cancer mondial (**Maillard, 2011**).

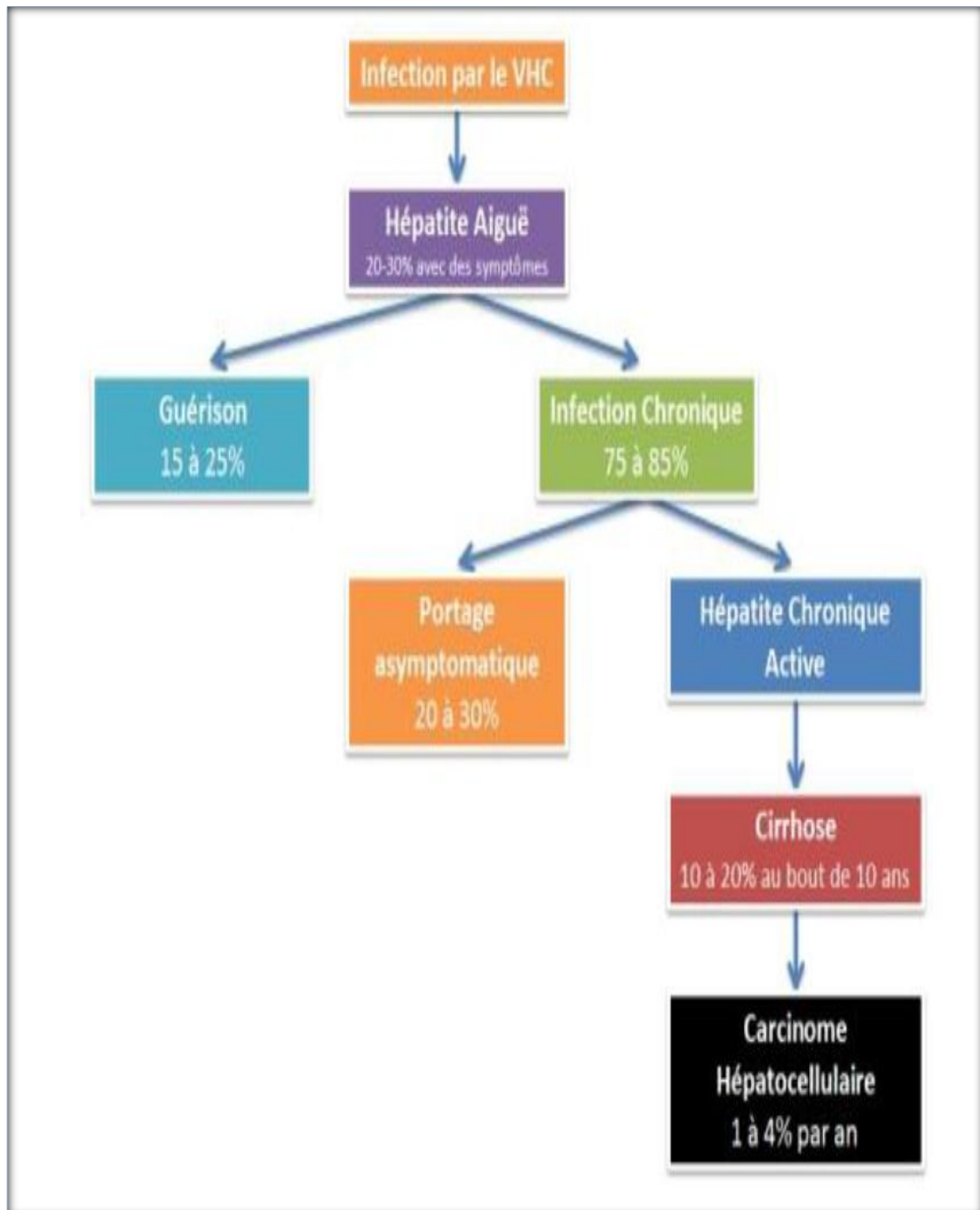


Figure 17. Schéma de l'évolution d'une infection par le VHC (Chen et Morgan, 2006).

C. Techniques de diagnostic du VHC

1. Les Tests indirects (testsérologique)

1.1. Détection des anticorps anti-VHC

La détection des anticorps anti-VHC dans le sérum ou le plasma est fondée sur l'utilisation ELISA (Enzyme –LinkedImmunoSorbentAssay) de troisième génération automatisée, sensibles et spécifiques (Pawlotsky, 2002). Les tests immunoblot, qui ont été utilisés pendant des années comme tests de confirmation, sont aujourd'hui obsolètes.

Ce test met en évidence les anticorps présents chez le patient témoignant du contact de celui-ci avec le virus de l'hépatite C : la positivité n'implique pas forcément l'existence d'une maladie virale évolutive que seule la présence d'un ARN viral sérique positif pourra affirmer. On estime en effet que 10 à 15 % des sujets vont guérir spontanément de leur hépatite virale C aiguë: ces sujets garderont leur sérologie positive mais auront un ARN viral négatif. De rares faux négatifs peuvent exister (Co-infectés VIH-VHC ou patients traités par traitement immunosuppresseur, nouveau nés de mère ARN positive, séroconversions retardées) (**Pawlotsky, 2002**).

1.2. Détermination sérologique du génotype (stéréotypage)

Le génotype du VHC peut être déterminé à l'aide d'un test ELISA compétitif qui détecte des anticorps spécifiques de génotype. Le test ne différencie pas les sous-types.

2. Les techniques de biologie moléculaire

2.1. La PCR

La détection et la quantification de l'ARN du VHC reposent aujourd'hui essentiellement sur les techniques de Polymérase Chain Réaction (PCR en temps réel). Ces techniques offrent l'avantage d'une grande sensibilité analytique et d'un intervalle de quantification qui permet de couvrir l'essentiel des charges virales rencontrées en pratiques cliniques. Deux techniques sont aujourd'hui commercialisées pour la détection et la quantification de l'ARN du VHC :

Cobas Amplipred – Cobas Taqman (CAP-CTM, Roche Diagnostics) et Abbott Real-Time HCV Assay (Abbott diagnostic). Ces deux techniques semi-automatisées. Les techniques de PCR en temps réel ont un seuil inférieur de détection de l'ARN viral de l'ordre de 10 à 15 unités internationales (UI)/ml. La technique CAP-CTM, la plus largement utilisée dans les laboratoires de virologie, sous-estime la charge virale de façon importante dans environ 15% des échantillons de génotype 2 et 30 % des échantillons de génotypes 4. Ce problème ne semble pas exister pour la technique (Abbott Real-Time HCV Assay) (**Marcellin et Asselah, 2002**).

La méthode de référence pour établir le génotypage est la détermination de la séquence de la région NS5B ou de la région E1 du génome, suivie de l'analyse phylogénique des séquences en comparaison à des séquences prototypes des différents génotypes. En pratique clinique, le génotype du VHC peut être déterminé par séquençage direct de la région 5' non codante ou par hybridation inverse de produits de PCR de cette même région. Si la recherche de l'ARN du VHC est positive, elle permet d'affirmer la présence d'une infection évolutive par le virus C. Sa sensibilité est actuellement très bonne avec un seuil de détection de 10 UI/ml (**Marcellin et Asselah, 2002**).

Donc, devant toute suspicion d'hépatite C, les malades doivent être testés pour la présence d'anticorps anti-VHC et pour celle de l'ARN viral. Quatre profils peuvent être individualisés :

- ✓ Si les 2 marqueurs sont négatifs dans ce cas, il ne s'agit pas d'une hépatite aiguë C.
- ✓ Si l'ARN seul est présent, il s'agit d'une hépatite aiguë C et la séroconversion survient généralement quelques jours à quelques semaines plus tard.
- ✓ Si les anticorps sont présents seuls, il ne s'agit probablement pas d'une hépatite aiguë C, mais il est prudent de reconstrôler les deux marqueurs à distance, car une éclipse de la réplication peut survenir avant l'établissement de l'infection chronique.
- ✓ Si les anticorps et l'ARN sont présents, il est souvent difficile de différencier l'HCV aiguë et l'HCV chronique inconnue jusqu'alors.
- ✓ La mise en évidence d'une réplication virale en l'absence d'anticorps se voit.
- ✓ exceptionnellement chez certains sujets profondément immunodéprimés ou chez des malades dialysés ou agammaglobulinémies.

II. STRATEGIE THERAPEUTIQUE DEVANT L'HEPATITE C

1. Historique du traitement

Depuis la découverte du VHC en 1989, des progrès considérables ont été réalisés afin d'améliorer l'efficacité du traitement de l'hépatite C, qu'elle soit chronique ou aiguë. Au début des années 90, la thérapie des infections par le VHC reposait sur la monothérapie avec IFN α qui permettait d'obtenir 20% de RVS. En 1998, les travaux de MC Hutchison et al et Poynard et al ont montré que l'utilisation d'une bithérapie associant l'IFN α et la RBV permettait l'augmentation significative du taux de RVS obtenue chez 40% des patients infectés (**McHutchison et al., 1998 ; Poynard et al., 1998**). En 2001, il a été démontré que l'utilisation de l'IFN α conjugué à du polyéthylène glycol (pegIFN α) était plus efficace que l'IFN α . La bithérapie associant le pegIFN α et la RBV permettait d'avoir une RVS dans 50% des cas (**Lindsay et al., 2001 ; Manns et al., 2001 ; Fried et al., 2002**).

Jusqu'en 2011, l'association de l'interféron pégylé- α (Peg-IFN- α) et de la ribavirine pour une durée de 24 ou 48 semaines a été le traitement de référence de l'hépatite chronique C (**Antaki et al., 2010**).

En 2011, le telaprevir et le boceprevir ont obtenu leur AMM (Autorisation de Mise sur le Marché) pour le traitement du VHC de génotype 1. Ces deux médicaments sont de la première vague d'antiviraux à action directe (AAD) de première génération. Ils ont pour cible la sérine protéase NS3-4A du VHC et sont donc appelés inhibiteurs de la protéase. Le telaprevir comme le boceprevir doivent être administrés en association avec le Peg-IFN- α et la ribavirine. Dans

la Phase III des essais sur le boceprevir et le telaprevir pour le VHC de génotype 1 chez des patients naïfs de traitement, la trithérapie a permis d'atteindre des taux de RVS plus élevés - de l'ordre de 65 % à 75 % - que ceux obtenus avec la bithérapie associant le Peg-IFN- α à la ribavirine (Bacon *et al.*, 2011 ; Jacobson *et al.*, 2011; Poordad *et al.*, 2011; Zeuzem *et al.*, 2011).

Trois nouveaux AAD anti-VHC ont été autorisés dans l'UE en 2014 pour être utilisés en association avec d'autres médicaments dans le traitement de l'infection par le VHC. Le sofosbuvir, le simeprevir et le daclatasvir (EASL, 2015).

Ainsi, Les objectifs d'amélioration de l'efficacité thérapeutique d'une part, et d'une réduction des effets indésirables d'autre part, expliquent l'abandon de l'utilisation de l'interféron, sauf cas exceptionnel (AFEF, 2017).

2. Objectif du traitement

L'objectif du traitement d'un patient atteint par une hépatite C chronique est l'éradication du VHC. Celle-ci est démontrée par une réponse antivirale soutenue (SVR), traduisant une charge virale quasi nulle (ARN VHC indétectable) et obtenue après une thérapie médicamenteuse pendant une durée bien spécifiée (Asselah, 2007). Dans une moindre mesure, ce traitement permet de prévenir, stabiliser voire faire régresser les lésions de fibroses hépatiques (Asselah, 2007). C'est la régression de ces lésions qui montre la guérison virologique chez les patients non cirrhotiques (stade de fibrose F0 à F3). Chez les patients atteints par une cirrhose (stade F4), la guérison virologique permet d'empêcher les complications, comme la décompensation d'une insuffisance hépatocellulaire ou d'une hypertension portale et donc entraîne une diminution de la mortalité. En revanche, il existera toujours une évolution possible vers le CHC chez ces derniers (AFEF, 2015).

3. Moyens thérapeutiques

Depuis plusieurs décennies, divers médicaments ont été proposés pour supprimer la réplication virale C. L'interféron alpha, la ribavirine puis les antis protéases (bocéprévir et télaprévir pour les patients de génotype 1) ont été associées, permettant ainsi d'obtenir la disparition de la virémie dans environ la moitié des cas, au prix d'un traitement prolongé (6 à 12 mois) et souvent mal toléré (HAS, 2014).

Une nouvelle génération d'antiviraux d'action directe est aujourd'hui mise à disposition des médecins et des malades. Il s'agit de médicaments qui ont, pour certains, une activité pangénotypique avec un meilleur profil de tolérance que les thérapies existantes notamment avec la possibilité de combinaison entre les antiviraux d'action directe entre eux constituant

une révolution thérapeutique dans la prise en charge de l'hépatite virale C (**Bourliere et Benhamou , 2011**).

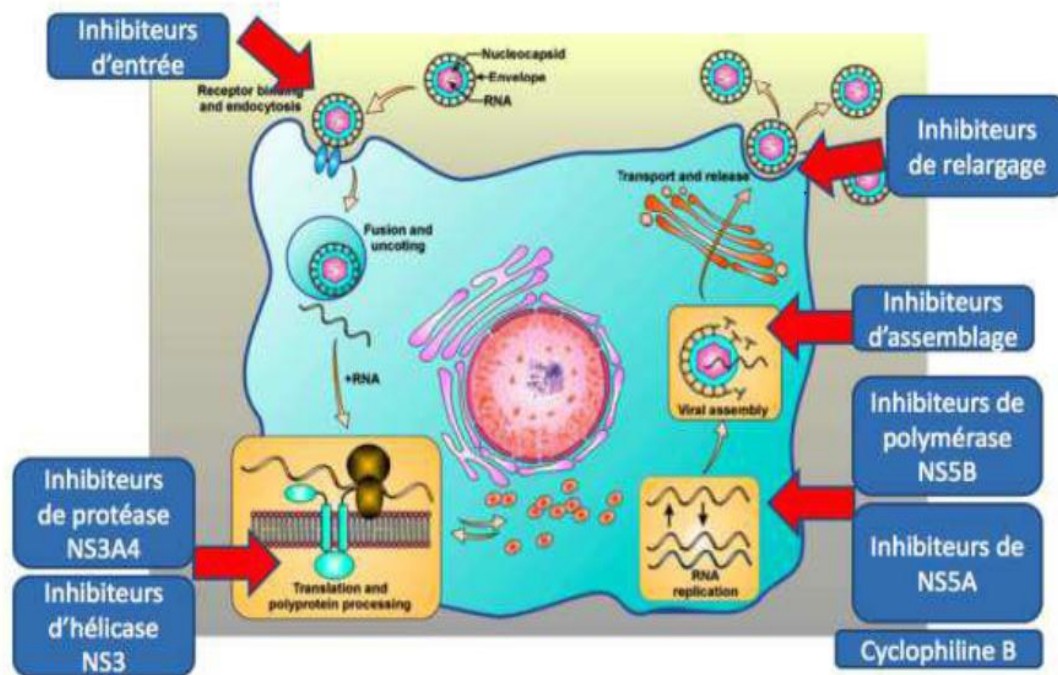


Figure 18 : Les cibles potentielles des agents antiviraux directs(Bourliere et Benhamou , 2011).

3.1. Les agents antiviraux directs spécifiques du VHC

Au cours de ces dernières années, l'amélioration de la compréhension des différentes étapes du cycle de réplication du VHC et la caractérisation des enzymes virales, ont permis le développement de nouvelles molécules : les antiviraux directs spécifiques du virus de l'hépatite C (**Bourliere et Benhamou, 2011**).

Les 3 principales classes thérapeutiques de l'hépatite C sont les inhibiteurs de protéase, les inhibiteurs de NS5A et les inhibiteurs de NS5B.

3.1.1. Inhibiteurs de protéase NS3/4A

La protéase virale NS3 associée à son cofacteur NS4 joue un rôle majeur dans la réplication du virus de l'hépatite C. La découverte de sa structure tridimensionnelle a permis le développement d'une nouvelle classe de médicaments : les inhibiteurs de protéase NS3/4A (**Bourliere, 2008**).

La première molécule de cette classe à avoir été développée fut le BILN-2061, mais son développement a dû être précocement arrêté en raison de la survenue d'une toxicité myocardique chez le chimpanzé (**Bourliere ,2008**).

Depuis, d'énormes progrès ont été réalisés et c'est ainsi qu'une première vague des inhibiteurs de la protéase (letelaprevir et le boceprevir) a obtenu son AMM en 2011. Ensuite une deuxième génération d'inhibiteurs de la protéase NS3-4A a été autorisée depuis 2014.

3.1.2. Les inhibiteurs de l'ARN polymérase NS5B

En se liant à l'ARN polymérase NS5B, ces molécules inhibent l'initiation de la transcription de l'ARN et l'élongation de la chaîne d'ARN naissante, perturbant ainsi la réplication du VHC (**Pawlotsky, 2010**).

On distingue deux groupes de molécules qui ciblent l'ARN polymérase NS5B :

-Les inhibiteurs nucléosidiques ou nucléotidiques qui miment les substrats naturels et ciblent le site catalytique de l'enzyme. Ils présentent l'avantage de ne pas être spécifiques de génotypes et d'avoir une barrière génétique à la résistance élevée (**Pawlotsky, 2010**).

-Les inhibiteurs non nucléosidiques, quant à eux, ciblent un des cinq sites allostériques (A à E) situés à la surface de l'enzyme, empêchant la transition conformationnelle de l'enzyme, nécessaire à l'initiation de la synthèse d'ARN. Ils sont efficaces exclusivement sur les VHC de génotype 1 et sont exposés à un risque plus élevé de résistance (**Pawlotsky, 2010**).

A ce jour, de nombreux inhibiteurs de l'ARN polymérase NS5B sont disponibles.

3.1.3. Les inhibiteurs de NS5A

La protéine NS5A est une protéine virale indispensable à la formation des complexes de réplication, elle est donc apparue comme une cible potentielle prometteuse pour le développement d'une nouvelle classe d'antiviraux directs spécifiques du VHC, les inhibiteurs de la protéine NS5A. Ces molécules perturberaient le fonctionnement des complexes de réplication en provoquant une redistribution de la protéine NS5A du réticulum endoplasmique vers les gouttelettes lipidiques et en bloquant l'expression de la forme hyper phosphorylée de la protéine NS5A (**Targett -Adams et al., 2011 ; Qiu 2011**).

4. les caractéristiques des médicaments disponibles en Algérie (AFEF 2017)

4.1 .Interféron pégylé

Les IFN sont des cytokines endogènes produites par toutes les cellules en réponse à de nombreux stimuli, notamment les infections virales. Ces molécules stimulent un réseau cellulaire qui régule la résistance aux infections virales et active la réponse immunitaire innée ou adaptative (**Borden et al., 2007**).

On connaît 2 types d'IFN α

- Les IFN α -2a et α -2b qui sont des protéines de 165 acides aminés, de faible poids moléculaire d'environ 19 kDa, rapidement éliminées de l'organisme, avec une demi-vie d'élimination moyenne de 4 à 9 heures selon les études (**Macquin-Mavieret al.,2002**) .Les deux IFN α 2a et 2b se distinguent par un acide aminé en position 23 (**Arnaud,2002**).

- L'IFN PEG qui est le résultat de la liaison entre l'INF α et le polyéthylène glycol, l'association diminuant la clairance de l'IFN par les reins, elle augmente sa demi-vie et permet l'obtention d'une concentration plus stable du médicament (**Fournier et al., 2008**).

- **Modalités thérapeutiques**

L'administration se fait par voie sous cutanée (**Fournier et al., 2008**).

La posologie est en fonction du type de l'interféron et du protocole choisi :

- IFN α standard en monothérapie ou en association avec la ribavirine : 3 millions d'unités 3 fois par semaine pendant 12mois (**Marcellin et Boyer, 2002**).

- IFN PEG : en bithérapie, les posologies sont pour l'IFN PEG α 2b de 1 à 1,5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ par semaine, et de 180 μg par semaine (quel que soit le poids du patient) pour L'IFN PEG α 2a (**Cacoub et Benhamou, 2002**).

* en monothérapie, en cas de contre-indication à la ribavirine, l'IFN PEG peut être utilisé à la dose de 1 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{semaine}$ pour IFN PEG α -2b ou à la dose de 180 $\mu\text{g}/\text{semaine}$ pour IFN PEG α -2a (**Cacoub et Benhamou, 2002**).

- **Effets secondaires**

Le plus fréquent est le syndrome pseudogrippal (fièvre, arthralgies, céphalées, frissons) (**Asselhal et al., 2003**).

Les autres effets secondaires possibles sont : une asthénie, un amaigrissement, une perte de cheveux, des troubles du sommeil, des troubles de l'humeur avec une irritabilité, des difficultés de concentration, une sécheresse cutanée (**Asselhalet et al., 2003**) .

4.2. Ribavirine

La ribavirine est un analogue de la guanosine qui après phosphorylation, peut être incorporé à l'ARN viral par l'ARN polymérase, interrompre la synthèse d'ARN et inhiber la réplication virale. Elle interfère aussi avec la production de la guanosine triphosphate qui est nécessaire à la réplication virale et elle pourrait avoir un effet immunomodulateur en favorisant les réponses cellulaires du type Th1 et elle pourrait avoir un effet immunomodulateur en favorisant les réponses cellulaires du type Th1 (**Feld et Hoofnagle, 2005**).

- **Modalités thérapeutiques**

La ribavirine est administrée par voie orale, elle existe sous deux formes commercialisées, le Rebetol® et le Copegus® (**Fournier et al., 2008**).

La ribavirine est utilisée à la dose de 800mg/j si le poids est inférieur à 65kg, 1000 mg/j si le poids est compris entre 65 et 85kg et 1 200mg/j si le poids est supérieur à 85kg, dans la mesure où cela permet d'obtenir une dose relativement élevée (supérieure à 10,6 mg/kg) (**Marcellin et Boyer, 2002**).

- **Effets secondaires** : On distingue :

- Effets secondaires non sévères : toux, dyspnée d'effort, insomnie, prurit, éruption cutanée, élévation de l'uricémie.

- Effets secondaires sévères : anémie hémolytique, tératogénicité, toxicité mitochondriale (chez les patients coinfectés par VHV/VIH) (**Gournay et Richou, 2002**).

4.3- Le sofosbuvir

Le sofosbuvir(Sofos) a obtenu son (AMM européenne) en Janvier 2014 C'est un analogue nucléotidique qui agit en tant que faux substrat de l'RdRp. Le Sofos provoque l'arrêt de la synthèse de l'ARN viral après son incorporation dans la chaîne naissante d'ARN. Son activité antivirale est pangénotypique et très puissante (**Sofia et al., 2010**).

- **Modalités thérapeutiques**

Le sofosbuvir est administrée par voie orale.

La dose du Sofos utilisée lors du traitement est de 400 mg une fois par jour, prise avec ou en dehors des repas. (**Lawitz et al., 2013**).

- **Effets secondaires**

- Fièvre, symptômes pseudo-grippaux.

- Diarrhée, nausées, vomissements.

- Troubles du sommeil.

- Maux de tête.

- Perte d'appétit.

- Anémie.

- Neutropénie.

- Baisse des plaquettes.

- Perte de poids.

- Vision floue.

4.4. L'association du Sofosbuvir et du Ledipasvir(Sofosled) :

-C'est une association de deux antiviraux à action directe : inhibiteur de la polymérase NS5B et un inhibiteur de NS5A du VHC.

✓ Le ledipasvir(LDV) est un inhibiteur de la protéine NS5A. Il inhibe la réplication virale ainsi que l'assemblage des virions (**Younossi et al., 2015**).

- **Modalités thérapeutiques**

Le sofosled est administrée par voie orale, avec ou sans nourriture.

Ce médicament est présenté sous forme d'un comprimé pelliculé contenant 90 mg de LDV et 400 mg de Sofos administré une fois par jour, (**Younossi et al., 2015**).

- **Effets secondaires**

-Fièvre, symptômes pseudo-grippaux.

-Diarrhée, nausées, vomissements.

-Troubles du sommeil.

-Maux de tête.

-Perte d'appétit.

-Anémie.

-Neutropénie.

-Baisse des plaquettes.

-Perte de poids.

-Vision floue.

Tableau -01 : Présentation et posologie des médicaments de l'hépatite C (AFEF, 2016 et 2017).

Médicaments	Présentation	Posologie
Ribavirine	Comprimés à 200 ou 400 mg	1000 mg/j si poids < 75 kg 1200 mg/j si poids ≥ 75 kg
Sofosbuvir (Sovaldi®)	Comprimés à 400 mg	1 comprimé par jour
Simeprevir (Olysio®)	Comprimés à 150 mg	1 gélule par jour
Daclatasvir (Daklinza®)	Comprimés à 30, 60 ou 90 mg	1 comprimé par jour

Sofosbuvir + Ledipasvir (Harvoni®)	Comprimés avec Sofosbuvir 400 mg et Ledipasvir 90 mg	1 comprimé par jour
Dasabuvir (Exviera®)	Comprimés à 250 mg	1 comprimé matin et soir
Paritaprevir/ritonavir + Ombitasvir (Viekirax®)	Comprimés avec Paritaprevir 75 mg, ritonavir 50 mg et Ombitasvir 12,5 mg	2 comprimés une fois par jour
Grazoprevir + Elbasvir (Zepatier®)	Comprimés avec Grazoprevir 100 mg et Elbasvir 10 mg	1 comprimé par jour
Sofosbuvir + Velpatasvir	Comprimés avec Sofosbuvir 400 mg et Velpatasvir 100 mg	1 comprimé par jour
Glecaprevir + Pibrentasvir	Comprimés avec Glecaprevir 100 mg et Pibrentasvir 40 mg	3 comprimés une fois par jour
Sofosbuvir + Velpatasvir + Voxilaprevir	Comprimés avec Sofosbuvir 400 mg et Velpatasvir 100 mg et Voxilaprevir 100 mg	1 comprimé par jour

5-Agents antiviraux disponibles ou en cours de développement dans le traitement de l'hépatite c

Tableau 02 : Agents antiviraux disponibles ou en cours de développement dans le traitement de l'hépatite C dont les résultats ont été publiés ou présentés dans des congrès scientifiques. Adapté de (Pawlotsky, 2014) et de L'Association Française pour l'Etude du Foie (AFEF) l'Avis d'expert n° 6 Juin 2015.

Classes	Génération	Agent	Compagnie pharmaceutique	Phase de développement
Inhibiteurs de la protéase NS3-4A	Première-génération, première vague	Telaprevir	Vertex, Janssen, Mitsubichi	AMM européenne
		Boceprevir	Merck	AMM européenne
	Première génération, deuxième vague	Simeprevir	Janssen	AMM européenne
		Faldaprevir	Boehringer-Ingelheim	III
		Asunaprevir	Bristol-Myers Squibb	III
		ABT-450/r Paritaprevir/r	Abbvie	AMM européenne
		Danoprevir	Roche	II
		Sovaprevir	Achillion	II ¹
		Vedoprevir	Gilead	II
		IDX320	Idenix	II
		Vaniprevir	Merck	III (Japon)
		Deuxième génération	MK-5172	Merck
	ACH-2684		Achillion	II
Inhibiteurs nucléosidiques ou nucléotidiques de la polymérase NS5B	Analogues nucléotidiques	Sofosbuvir	Gilead	AMM européenne
		VX-135	Vertex	II ²
	Analogue nucléosidique	Méricitabine	Roche	II
Inhibiteurs non nucléosidiques de la polymérase NS5B	Inhibiteurs du domaine du pouce I	BMS-791325	Bristol-Myers Squibb	III
		TMC647055	Janssen	II
	Inhibiteurs du domaine du pouce II	Lomibuvir	Vertex	II
		GS-9669	Gilead	II
	Inhibiteurs du domaine de la paume I	Dasabuvir	Abbvie	AMM européenne
		ABT-072	Abbvie	II
		Setrobuvir	Roche	II
Inhibiteurs NS5A	Première génération	Daclatasvir	Bristol-Myers Squibb	AMM européenne
		Ledipasvir	Gilead	AMM européenne
		Ombitasvir	Abbvie	AMM européenne
		PPI-668	Presidio	II
		PPI-461	Presidio	II
		ACH-2928	Achillion	II
		GSK2336805	GlaxoSmithKline	II
		BMS824393	Bristol-Myers Squibb	II
		Samatasvir	Idenix	II
	Deuxième génération	MK-8742	Merck	II
		ACH-3102	Achillion	II
GS-5816		Gilead	II	

6. Instruction N°17 relative à la prise en charge de l'hépatite virale C (Institut Pasteur d'Algérie)**-Patients naïfs**

- Pour les génotypes 1, 4, 5,6 :

Monothérapie	12 semaines (cirrhose : F0, F1, F2, F3)
-Bithérapie	12 semaines (cirrhose : F4 compensée)
-Trithérapie	12 semaines

- Pour le génotype 2 :

Bithérapie	12 semaines (absence de cirrhose)
------------	-----------------------------------

- Pour le génotype 3 :

Bithérapie	12 Semaines
------------	-------------



Chapitre 02

Matériel et Méthods

I. MATERIELS

1. Prélèvement sanguin

Le prélèvement se effectuera sur 50 échantillons (témoins) pour réaliser les paramètres biochimiques et sérologiques.

2. Lieu et durée de l'étude

2.1. Le Lieu

Notre travail a été réalisé aux :

- ✓ L'établissement public sanitaire hospitalier (EPSH) **BOUGHERRA BOULAARESS** situé à Bekkaria (wilaya de TEBESSA) plus précisément au niveau du service infectieux et au sein du laboratoire d'analyses médicales.
- ✓ L'établissement public sanitaire hospitalier (EPSH) **MOUHAMD CHEBOUKI**, situé à Chéria (wilaya de TEBESSA) plus précisément au niveau du service médecine femme et médecine homme, au sein du laboratoire interne d'analyses médicales et la banque des sangs (PTS).
- ✓ **Institut PASTEUR D'ALGER** (annexe de Sidi-Fredj) au niveau de laboratoire des HEPATITES.

✓ 2.2. La Durée

Notre stage s'est étalé sur une période d'environ 3 mois du 06 février 2018 jusqu'au 30 avril 2018 au (EPH) et 5 jours à l'institut de pasteur d'Alger (15 - 19 avril 2018).

3. Type de l'étude

Notre étude est comparative, elle consiste à la recherche des facteurs de risque des traitements anti VHC sur le plan hématologique.

4. Population cible

Notre travail a concerné les patients qui ont été une hépatite virale C et les patients qui ont été sous traitements anti VHC (monothérapie, bithérapie et trithérapie), Ces groupes ont été comparés à un groupe constitué des personnes saines. Nous avons collecté 150 échantillons :

- 50 témoins qui diagnostiqués négativement.
- 100 cas d'hépatite virale C diagnostiqués positivement : 50 patients non traités et 50 patients traités et suivis.

4.1. Taille de l'échantillon

Notre échantillon est répartie dans Cinq groupes :

*Un groupe de 50 personnes saines comme témoin.

*Un groupe de 50 malades atteints de VHC.

*Un groupe de 20 malades sous le traitement par (Sofosled).

*Un groupe de 20 malades sous le traitement par (Sofosled de plus Ribavirine).

*Un groupe de 10 malades sous le traitement par (Sofosbuvir de plus Ribavirine de plus INFapeg).

4.2. Critères d'inclusion

Nous avons admis dans notre échantillon des dossier médicales d'hépatite virale C diagnostiqués positivement de différentes hôpital de la wilaya de Tébessa qu'aites et suivispendant 12 semaines de traitement au sein du service des maladies infectieuses du EPSH Mouhammed Chbouki (CHERIA) et EPSH Bougherra Boulaarass (BAKKARIA) depuis janvier 2018 jusqu'au 30 mars 2018 et des patients d'hépatite virale C diagnostiqués positivement mais non traité .

4.3. Critères d'exclusion

Nous avons exclu dans cette étude les patientes qui ont fait un traitement de 06 moins, les malades diabétique et animique et les malades réchutes.

II. METHODES

Pour aborder notre étude, nous avons utilisé une fiche d'exploitation comportant les variables suivants :

1. Données

Epidémiologiques, cliniques, biologiques.

2. Le bilan pré-thérapeutique et Les bilans durant le traitement

- Bilan hépatique.
- Bilan biologique.
- Bilan virale.

3. Les protocoles thérapeutiques

3.1. Molécules et posologies

3.1.1. Monothérapie

Sofosled (Sofosbuvir/Ledipasvir) [400mg-90mg (1cp/jr)].

3.1.2 Bithérapie

Sofosled [400mg-90mg (1cp/jr)] + Ribavirine 200mg [1200mg < poids 75Kg > 1000mg].

3.1.3. Trithérapie

Sofosbivure [400mg (1cp/jr)] + Ribavirine 200mg [1200mg < poids 75Kg > 1000mg] + INF peg[dose 1ug/Kg par semaine].

3.2. Durée du traitement**-Patients naïfs**

- Pour les génotypes 1, 4, 5,6 :

Monothérapie	12 semaines (cirrhose : F0, F1, F2, F3)
-Bithérapie	12 semaines (cirrhose : F4 compensée)
-Trithérapie	12 semaines

- Pour le génotype 2 :

Bithérapie	12 semaines (absence de cirrhose)
------------	-----------------------------------

- Pour le génotype 3 :

Bithérapie	12 Semaines
------------	-------------

4. Collecte des données

- **Notre source de données était**

- Les registres d'hospitalisation.

- Les dossiers médicaux du :

- service des infectieux du EPH Mouhammed CHBOUKI -CHERIA-
- service des infectieux du EPH BOUGHERRA Boulaarass -BAKKARIA-

- **-La collaboration du**

- Une infectiologue (EPH : CHERIA).

- Des biologistes (biochimiste, pharmacologiste, bio-moléculiste : institut PASTEUR d'ALGER).

5. Préparation des échantillons

5.1. Prélèvement sanguin

Pour réaliser un dosage des paramètres hématologiques, biochimiques et virologiques des patients, nous avons procédé à des prélèvements sanguins des patients. Pour chaque patient, le prélèvement a été réalisé par ponction veineuse au pli du coude et à jeun. Le sang veineux est récupéré sur deux tubes de prélèvement contenant des anticoagulants différents, selon les exigences des fiches techniques des examens biochimiques et hématologiques à réaliser :

- Un tube contenant un anticoagulant (héparine) utilisé pour le dosage biochimique et virologique.
- UN tube à EDTA comme anticoagulant de sang total, pour l'hémogramme (FNS).

6. Les paramètres virologiques effectués

6.1. La charge virale (RT-PCR)

La technique utilisée pour la recherche qualitative de l'ARN du VHC est la **RT-PCR** (Polymérase Chain Réaction en temps réel), C'est un test qualitatif ou quantitatif de mesure de **la charge virale**, La **RT-PCR** est très sensible puisque le seuil de détection de la charge virale va jusqu'à 10 ul/ml. Sa spécificité est de 97 à 99%. Ce test permet d'identifier l'ARN viral dans une semaine après la contamination.

La RT-PCR quantitative mesure de manière précise la charge virale du patient infecté. La quantification se fait à l'aide de sondes fluorescentes spécifiques du VHC appliquées sur le produit d'amplification par PCR.

6.1.1. Principe de la technique (RT-PCR)

La PCR en temps réel utilise le principe général de la PCR classique avec une différence, une amplification mesurée tout au long de la réaction.

L'ARN est tout d'abord extraite et rétrotranscrit grâce à une enzyme appelée transcriptase inverse, qui permet la synthèse de l'ADN complémentaire (ADNc). Ce dernier est ensuite utilisé pour réaliser une PCR.

La RT-PCR peut se faire dans un appareil particulier (**Abbott m2000rt (Amplificateur)** + **Abbott m2000sp (Extracteur)**) qui permet de visionner en temps réel la synthèse des fragments d'ADN. Pour cela, des molécules fluorescentes qui se fixent sur l'ADN sont utilisées. Elle permet de suivre en continu (« en temps réel ») le processus d'amplification PCR en détectant la fluorescence émise par les produits de PCR néo formés, La fluorescence de l'échantillon augmente proportionnellement au nombre de molécules d'ADN.

6.1.2. Les réactifs de RT-PCR

- * Master Mix.
- * Reagent components.
- * Thermo Stable Tth Polymerase Enzyme.
- * Activation Reagent.
- * m Lyse.
- * wash solution.
- * CI : Contrôle interne.
- * Contrôle (-) : Negative Control.
- * Contrôle (L) : Low Positive Control.
- * Contrôle (H) : High Positive Control.
- * Calibrator

*Calibrator B



Figure 19 : Les réactifs de RT-PCR.



Figure 20 : Les échantillons (sérum des patients)



Figure 21 : Extracteur (Abbott m2000spt).



Figure 22 : Plaque finale contient l'ARN virale (ARN d'HCV).

6.1.3. Amplification et Détection : par un amplificateur (Abbott m2000rt)

- ✓ **Amplification** : l'ARN virale est transcrite inversement à une ADNc pour faire l'amplification automatique dans Abbott m2000rt.
- ✓ **Détection** : La détection peut se faire à l'aide de composé fluorescent qui se lie aux acides nucléiques, ou de sondes.



Figure 23 : Amplificateur (Abbott m2000rt).

6.2. Les Tests indirects ou sérologiques

Les tests sérologiques sont des tests immuno-enzymatiques de type ELISA (Enzyme Linkedimmuno-sorbentAssay).

6.2.1. Principe de test ELISA :(AID anti-HCV ELISA ^{Plus} Wantai HCV Diagnostics) :

Ces tests 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 virale et des anticorps IgA, IgM, IgG.

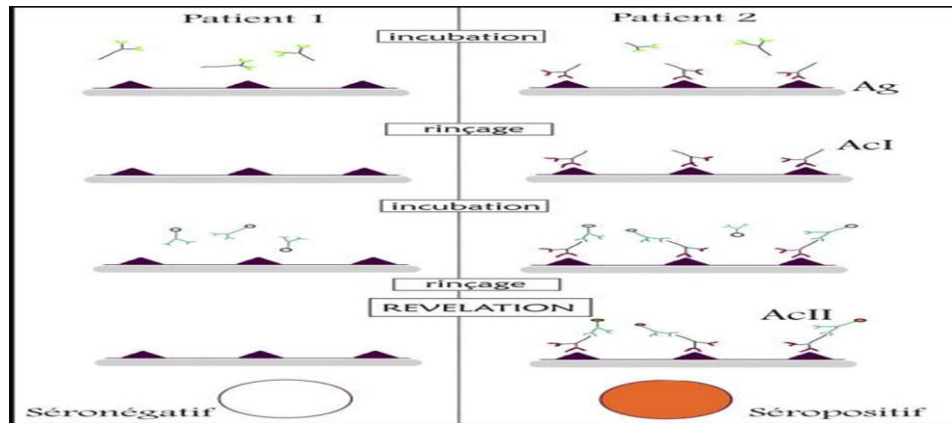


Figure24 : Principe d'ELISA.

(<https://www.google.dz>)

6.2.2. Les réactifs d'ELISA

- BIOTINConjugate.
- Contrôle Négatif.
- Contrôle Positif.
- HRP Conjugate.
- Chromogène A.
- Chromogène B.
- La solution stop.



Figure 25 : Quelques réactifs d'ELISA.

6.2.3. Protocole d'ELISA

- Laisser la cupule A1 pour le blanc.
- Déposer :
 - ✓ 50ul de BIOTIN Conjugate dans chaque cupule sauf le blanc.
 - ✓ 50 ulde Contrôle Négatif dans les cupules B1, C1 et D1.
 - ✓ 50 ul de Contrôle Positif dans les cupules E1, F1.
 - ✓ 50 ul de Sérum de patients dans les cupules G1, H1

Homogénéiser en aspirant et faisant ressortir le mélange au moins 3 fois, recouvrir la plaque.

- Incuber à 37⁰C pendant 60 min.
- Lavage (5 cycle avec 30 à 60 s d'incubation).
- Distribuer 100ul de HRP Conjugate dans chaque cupule sauf le blanc.
- Recouvrir la plaque.
- Incuber à 37⁰ C pendant 30 min.
- Lavage (5 cycle avec 30 à 60 s d'incubation).
- Déposé 50ul de chromogène A et 50ul de chromogène B dans chaque cupule compris le blanc.
- Recouvrir la plaque.
- Incuber à 37⁰ C pendant 30 min tenir à l'abri de de la lumière.
- Ajouter 50ul de la solution stop dans chaque cupule.
- Lecture à 450 nm ou 450/620-700 nm.



Figure 26 : Manipulation d'ELISA.

6.2.4. Validation du test d'ELISA

- Do du blanc <0.080 à 450 nm.
- Docontrôle positif > 0.800 à 450/630 nm.
- Docontrôle négatif < 0.100 à 450/630 nm.

Vs = Moyenne des Contrôle Négatifs +0.12.

6.2.5. Interprétation des résultats :

- Résultat Négative : $DO/ V_s < 1$.
- RésultatPositive : $DO/ V_s \geq 1$ confirmé avec RT-PCR.

7. Dosage des paramètres hématologiques

7.1. FNS

FNS ou numération formule sanguine, est un examen biologique permettant de comptabiliser les différents éléments figurée du sang d'une manière à caractériser quantitativement les populations érythrocytaires (numérations, hématocrites, taux d'hémoglobine et indices érythrocytaires et leucocytaires numération).

-L'hémogramme a été déterminé le même jour du prélèvement à partir de sang total sur un automate compteur de type (d'Abacus 380) à 19 paramètres. Cet appareil, destiné à l'analyse hématologique de manière automatique, donne directement les valeurs des différents paramètres hématologiques (globules blanc (GB), plaquettes (PLT), globules rouges (GR), hématocrite (HCT), hémoglobine (HGB), volume globulaire moyen (VGM), teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH), IDR, volume plaquettesmoyen (VPM) , PTC, IDP, lymphocytes (LYM), GRAN (granulocyte), MID (monocyte) .



Figure 27 : Unautomate d'Abacus 380 à 19 paramètres.

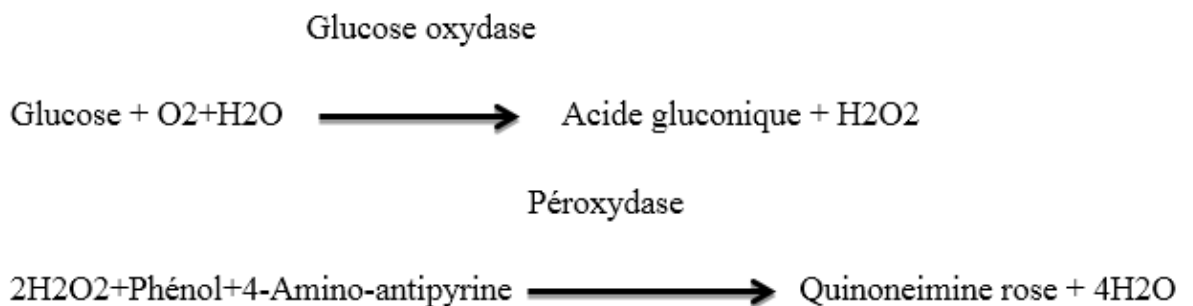
8. Dosage des paramètres biochimiques

8.1. Dosage du glucose

Le dosage du glucose plasmatique est réalisé par une méthode colorimétrique. En présence de la glucose-oxydase, le glucose est oxydé en acide gluconique et peroxyde d'hydrogène. Ce dernier, en présence de la peroxydase et du phénol, oxyde un chromogène (4-aminoantipyrine) incolore en un colorant rouge à structure quinoneimine. L'absorption est mesurée à 505 nm et l'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration en glucose.

*Principe

Détermination enzymatique du glucose selon les réactions suivantes :



8.2. Dosage des transaminases

8.2.1. Dosage de L'ASAT (TGO)

*Principe

L'aspartate-amino-transferase est dosé par méthode cinétique. Le principe de dosage repose sur la réaction suivante :

2 oxoglutarate + L-Aspartate $\xrightarrow{\text{GOT}}$ Glutamate + oxaloacetate
Oxalo-acétate + NADH + H⁺
Malate + NAD⁺

Le taux de diminution de la concentration en NADH est directement proportionnel à l'activité aspartate-amino-transférase dans l'échantillon.

- GOT : Transaminase glutamique oxaloacétique.
- MDH : Malate Déshydrogénase.

*Réactif utilisés

- Réactif 1 : Solution Tampon Tris L- aspartate = 200 mmol/l pH 7.8 à 30°C.
- Réactif 2 : NADH + lactate déshydrogénase -malate déshydrogénase cétooglutarate.

*Préparation et stabilité

Dissoudre 3 ml de réactif 2 dans 30ml de réactif 1. Après préparation, cette solution de travail est stable : 7 jours à 2-8°C et 24 heures à 20-25°C.

*Mode opératoire

Après avoir obtenu le sérum sanguin par une centrifugation, 1ml de réactif de travail est additionné à 100µl de sérum. Après agitation, le mélange est incubé pendant 1min dans un bain marie à une température ambiante. Le spectrophotomètre est ajusté avec de l'eau distillée. Les valeurs de l'absorbance des échantillons sont ensuite lues après une minute à une longueur d'onde de 340nm. Les lectures sont réalisées trois fois successives avec un décalage d'une minute entre chaque lecture. L'activité de l'ASAT est ensuite déduite à l'aide de la formule suivante :

- **Activité ASAT (U/L) = DO/mn × 1747.**

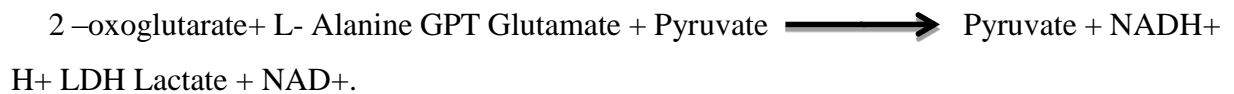
-Valeurs de référence de taux de l'ASAT :

- ✓ Femme : jusqu'à 31 UI/l.
- ✓ Homme : jusqu'à 38 UI/l.

8.2.2. Dosage de l'ALAT (TGP) :

***Principe**

L'alanine amino-transferase est dosée par méthode cinétique. Le principe de dosage repose sur la réaction suivante :



-LDH : Lactate Déshydrogénase.

Le taux de diminution de la concentration en NADH est directement proportionnel à l'activité alanine transférase dans l'échantillon.

- GPT : Transaminase Glutamique pyruvique.

- LDH : Lactate Déshydrogénase.

***Réactifs utilisés :**

- Réactif 1 : Solution Tampon Tris L-Alanine (PH 7.8 à 30°C 500 mmol/l).
- Réactif 2 : LDH (substrat) +NADH+ lactate déshydrogénase+2oxoglutarate.

***Préparation et stabilité :**

Dissoudre 3ml réactif 2 dans 30ml de réactif 1. Après préparation, cette solution de travail est stable : 7 jours à 2-8°C et 24 heures à 20-25°C.

***Mode opératoire :**

Après avoir obtenu le sérum sanguin par une centrifugation, 1ml de réactif de travail est additionné à 100µl de sérum. Après agitation, le mélange est incubé pendant 1min dans un bain marie à une température ambiante. Le spectrophotomètre est ajusté avec de l'eau distillée. Les valeurs de l'absorbance des échantillons sont ensuite lues après une minute à une longueur d'onde de 340nm. Les lectures sont réalisées trois fois successives avec un

décalage d'une minute entre chaque lecture. L'activité de l'ASAT est ensuite déduite à l'aide de la formule suivante :

- **Activité ALAT (U/L) = DO/mn × 1747.**

-Valeurs de référence de taux de l'ALAT :

- ✓ **Femme : jusqu'à 31 UI/l.**
- ✓ **Homme : jusqu'à 40 UI/l.**

9. Analyse statistique

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne plus ou moins l'écart-type ($m \pm s$) et illustrés par des tableaux et figures. L'analyse statistique a été réalisée à l'aide d'un logiciel statistique Excel 2013 pour présenter les résultats en graphes et secteurs, MINITAB-13 ou nous avons sollicité le modèle linéaire généralisé pour faire une comparaison statistique globale des moyennes des échantillons (Test ANOVA). Ce modèle nous donne automatiquement le résultat du test de comparaison des moyennes par rapport à la moyenne du sain (Test de Fisher).

Les différences sont considérées significatives à $P < 0,05$, très significatives à $P < 0,01$ et très hautement significative à $P < 0,001$.

A decorative graphic of a scroll with a grey shadow and rounded corners, containing the chapter title and subtitle.

Chapitre 03

Résultats

I. Caractéristiques de la population étudiée

L'analyse des caractéristiques de la population étudiée montre qu'il existe une différence entre les sexes des populations sains et Malades. La plus part des malades qui atteints de l'hépatite virale C sont des femmes.

Notre étude a montré que le Génotype la plus fréquent dans la région de Tébessa est le sous Génotype (1b) et les autre Génotype (1-2-4) et sous Génotype (2(2a/2c), 2(2a/2b) sont existé mais rarements.

Tableau 3 : Caractéristiques de la population étudiée.

Caractéristiques	Population Sain		Population Malade		Population traités	
Nombre	50		50		50	
Age (Ans)	adultes		Adultes		Adultes	
Sexe	42 Femmes	08 Hommes	30 Femmes	20 Hommes	42 femmes	08 Hommes

Tableau 04 : Les différents Génotypes dans la population étudiée.

Génotype	1b	1	2	4	2(2a/2c)	2(2a/2b)
Nombre	89	02	06	01	01	01

1. Répartition selon le sexe

Le nombre des patients de sexe féminin est de ce qui (72 cas) représente 82% de l'ensemble des cas (100 cas). Ce nombre est relativement supérieur au nombre de malades de sexe masculin 28 cas qui est représenté 28% de l'ensemble des cas.

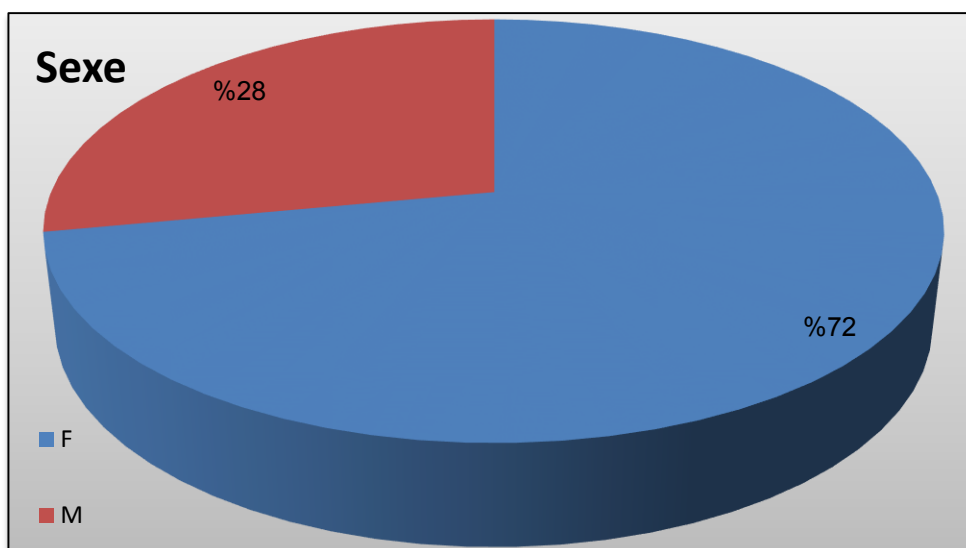


Figure28 : Répartition des patients selon le sexe.

2-Répartition par âge

Notre étude a montré que le risque de survenu des patients qui atteints de l'hépatite C est nettement plus élevé chez les sujet de (46-65 ans) avec 67 %, par apport au sujets de (25-45 ans) avec 15% et (66-85 ans) avec 18%.

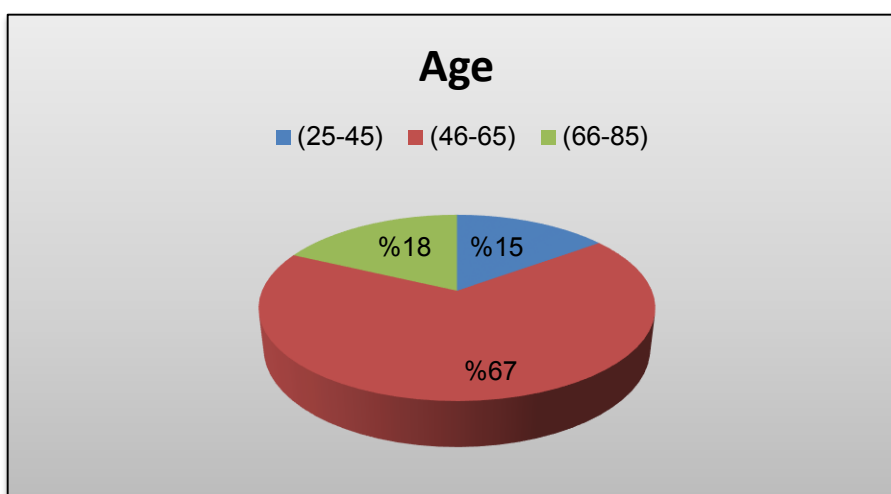


Figure29 : Répartition des malades selon l'Age.

3-Répartition selon le Génotype

Notre étude a montré que le Génotype la plus fréquent dans la région de Tébessa est le sous Génotype (1b) avec 89% du nombre totale des cas (100 patients qui atteints de l'hépatite C) dans notre étude , le Génotype (1) avec 02 % , le Génotype (2) avec 06% , le Génotype (4) avec 01 % , le Sous Génotype [2(2a/2c)] avec 01% et le Sous Génotype [2(2a/2b)] avec 01%.

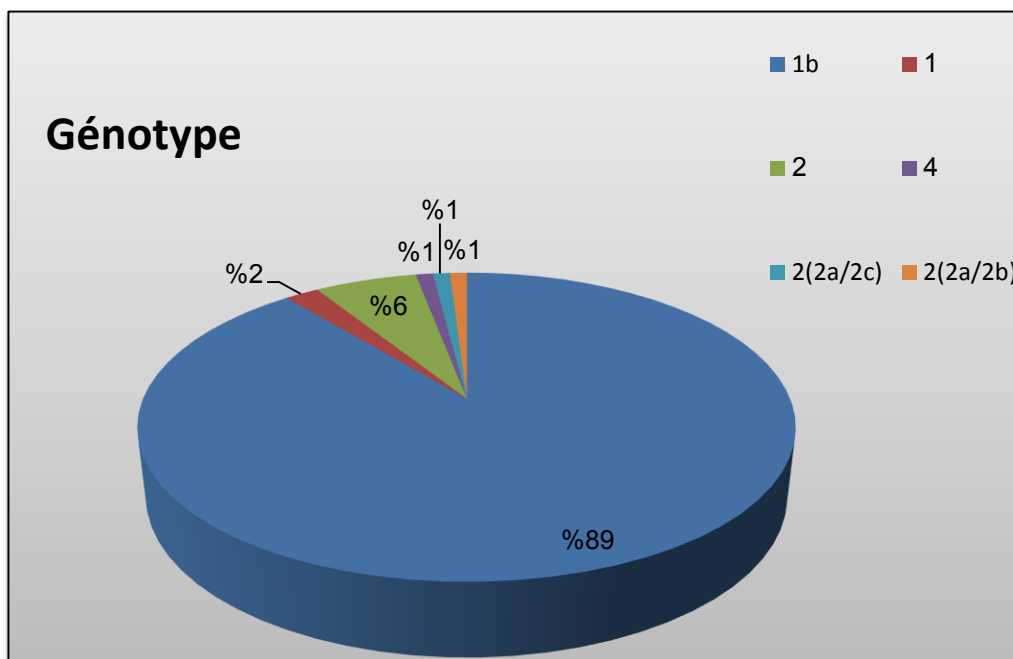


Figure30 : Répartition des génotypes viraux dans la population étudiée.

4. Répartition selon la Charge virale initiale :

La charge virale est déterminée à l'aide de la Polymérase Chain reaction (RT-PCR), Dans notre population, nous avons pris la valeur de 600.000 UI/ml (5.78 Log) pour définir deux tranches de charge virale. Cette valeur constitue, dans de récentes études, une limite -seuil entre une charge virale initiale dite faible et une charge virale initiale élevée. La répartition est représentée dans la figure (31).

Tableau 05 : Répartition selon la Charge virale initiale.

	charge virale initiale faible	charge virale initiale élevée
La charge virale initiale	$\geq 600.000\text{UI/ml}(5.78\text{Log})$	$< 600.000\text{UI/ml}(5.78\text{Log})$
Pourcentage %	39	61

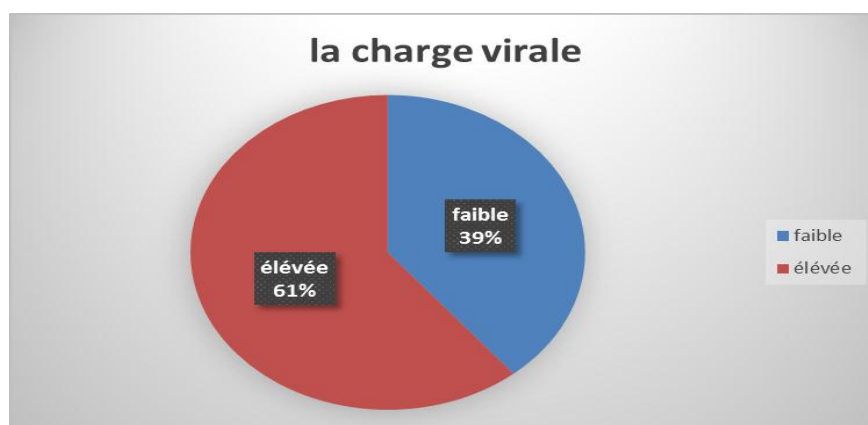


Figure 31 : Répartition selon la charge virale initiale

II. Etude Hématologique

1- Variation des paramètres érythrocytaire chez les sujets sains, malades et traités

L'analyse statistique de nos résultats (Tableau 04) permet de constater :

➤ Concernant le nombre des globules rouges (GR) : comparativement aux sujets sains on a une augmentation très hautement significative ($p \leq 0,001$) chez les sujets malades et traités (Monothérapie « S2 »), par contre, il y a diminution très hautement significative ($p \leq 0,001$) chez les sujets traités (Bithérapie « S8 ») et (Trithérapie « S6 » et « S8 »).

➤ Concernant le volume globulaire moyen (VGM) : Il y a une augmentation très significative ($p \leq 0,01$) chez les sujets traités (Bithérapie « S8 ») et (Trithérapie « S6 et S8 ») par rapport aux sujets sains.

➤ Concernant le pourcentage d'hématocrite (HTC) : il y a une diminution très hautement significative ($p \leq 0,001$) chez les sujets traités (Bithérapie « S8 ») et (Trithérapie « S6 » et « S8 ») comparativement aux sujets sains.

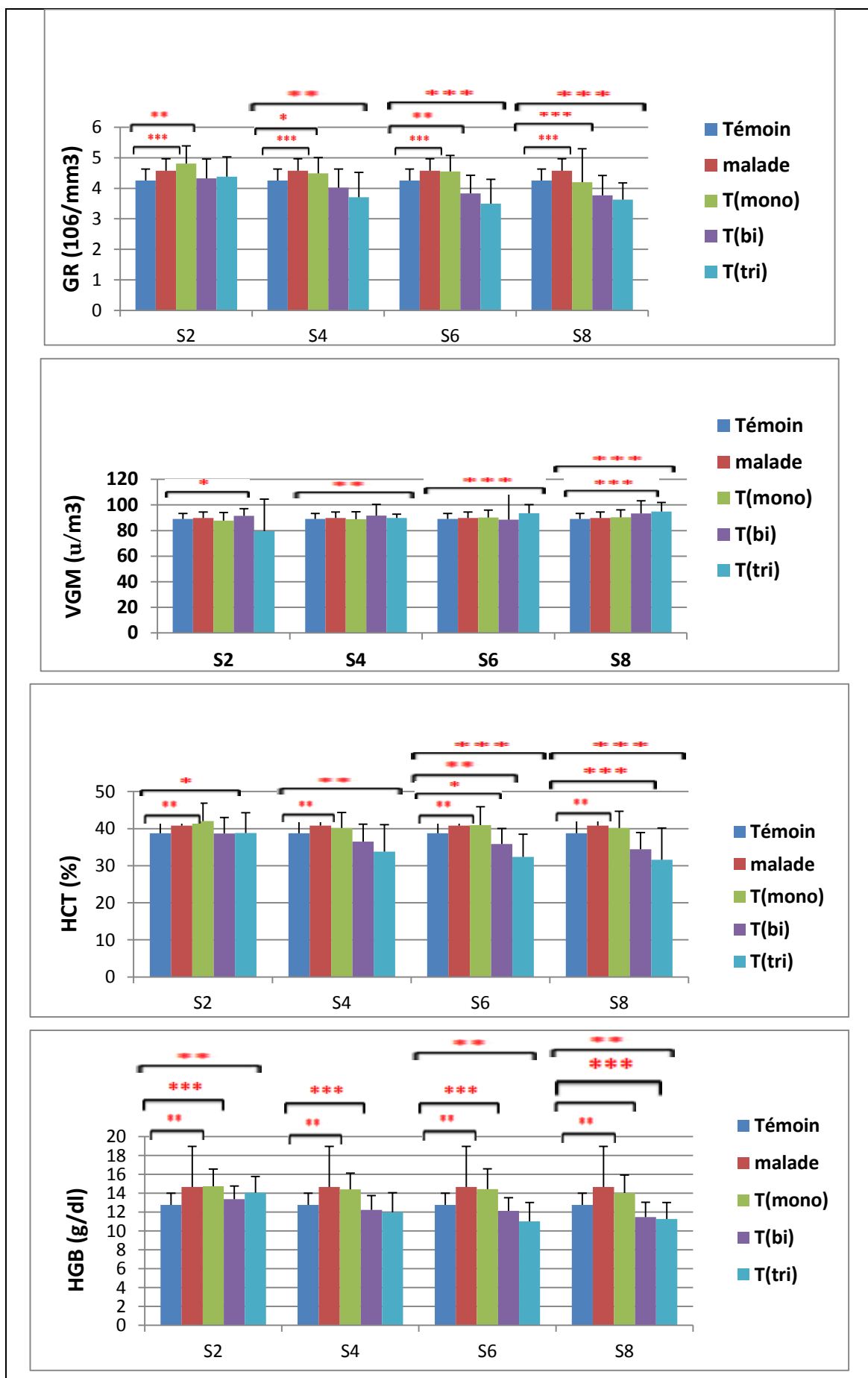
➤ Concernant le Teneurs en hémoglobine (HGB) : il y a une augmentation très significative ($p \leq 0,01$) chez les sujets malades, aussi une augmentation très hautement significative ($p \leq 0,001$) chez les sujets traités (Monothérapie « s2, s4, s6 » par contre une diminution très significative ($p \leq 0,01$) chez les traités (Bithérapie « s8 ») comparativement aux sujets sains.

➤ Concernant la Teneur Corpusculaire Moyenne en hémoglobine (TCMH) : Une augmentation très hautement significative ($p \leq 0,001$) chez les lots traités (Monothérapie « S4, S6, S8 ») et (Trithérapie « S2, S4 et S8 ») comparativement aux sujets sains.

➤ Concernant l'indice de distribution des globules rouges (IDR) : il y a une augmentation très hautement significatif ($p \leq 0,001$) chez les sujets traités (Monothérapie « S2, S8 »), (Bithérapie) à chaque semaine et (Trithérapie « S6, S8 ») par rapport aux sains.

Tableau 06: Variation des paramètres érythrocytaire GR, VGM, HGB, TCMH, HCT et IDR chez les sujets sains, malades et traités.

Paramètre		GR (10 ⁶ /mm ³)	VGM (U/m ³)	HCT (%)	HGB (g/dl)	TCMH (pg)	IDR (%)
Patients							
T		4.254±0.378	89.135± 4.296	38.774±3.740	12.774 ± 1.244	29.560 ±1.488	12.612 ±0.510
M		4.577± 0.390 ***	89.866± 4.662 Ns	40.832±3.437 **	14.652± 4.315 **	30.040± 1.857 Ns	12.896±0.944 Ns
T (mono)	S2	4.810± 0.579 ***	87.655± 6.390 Ns	42.040± 4.832 **	14.745±1.812 ***	29.290 ±6.835 Ns	13.425 1.265 ***
	S4	4.491± 0.518 *	88.895± 5.778 Ns	40.176± 4.162 Ns	14.419 ±1.720 ***	31.810 ±2.669 ***	13.362±1.416 **
	S6	4.555± 0.522 **	90.160± 5.833 Ns	40.975± 4.911 *	14.425± 2.157 ***	31.685± 3.312 ***	13.370± 1.492 **
	S8	4.197± 1.100 Ns	90.426± 5.645 Ns	40.184± 4.497 Ns	14.026 ± 1.914 **	31.511± 3.068 ***	13.363± 1.353 ***
T (bi)	S2	4.326 ± 0.637 Ns	91.550± 5.554 *	38.725± 4.285 Ns	13.360 ± 1.417 Ns	31.945± 4.140 **	13.455± 1.065 ***
	S4	4.020± 0.610 *	91.710± 8.701 Ns	36.510±4.684 *	12.240± 1.511 Ns	30.755± 4.009 Ns	14.030 ±1.945 ***
	S6	3.830± 0.5964 **	93.310±8.353 Ns	35.889± 4.151 **	12.133± 1.384 Ns	31.511 ±3.905 **	14.178± 1.765 ***
	S8	3.767 ± 0.656 ***	93.350± 9.839 **	34.450± 4.521 ***	11.470±1.582 ***	30.835± 3.691 *	14.830± 2.526 ***
T(Tri)	S2	4.378± 0.655 Ns	87.380± 9.181 Ns	38.836 ± 5.468 Ns	14.064 ±1.707 **	31.591 ±1.484 ***	13.091± 1.416 Ns
	S4	3.711± 0.810 **	89.790± 2.950 Ns	33.800± 7.258 **	11.970± 2.096 ns	31.750 ±2.033 ***	13.730± 2.218 **
	S6	3.493± 0.799 ***	93.450± 6.797 **	32.350± 6.125 ***	11.010±2.619 **	31.520±3.163 **	14.680±2.562 ***
	S8	3.633± 0.546 ***	94.840± 7.027 **	31.580± 8.599 ***	11.270± 1.747 **	31.660± 2.171 ***	14.32±1.024 ***



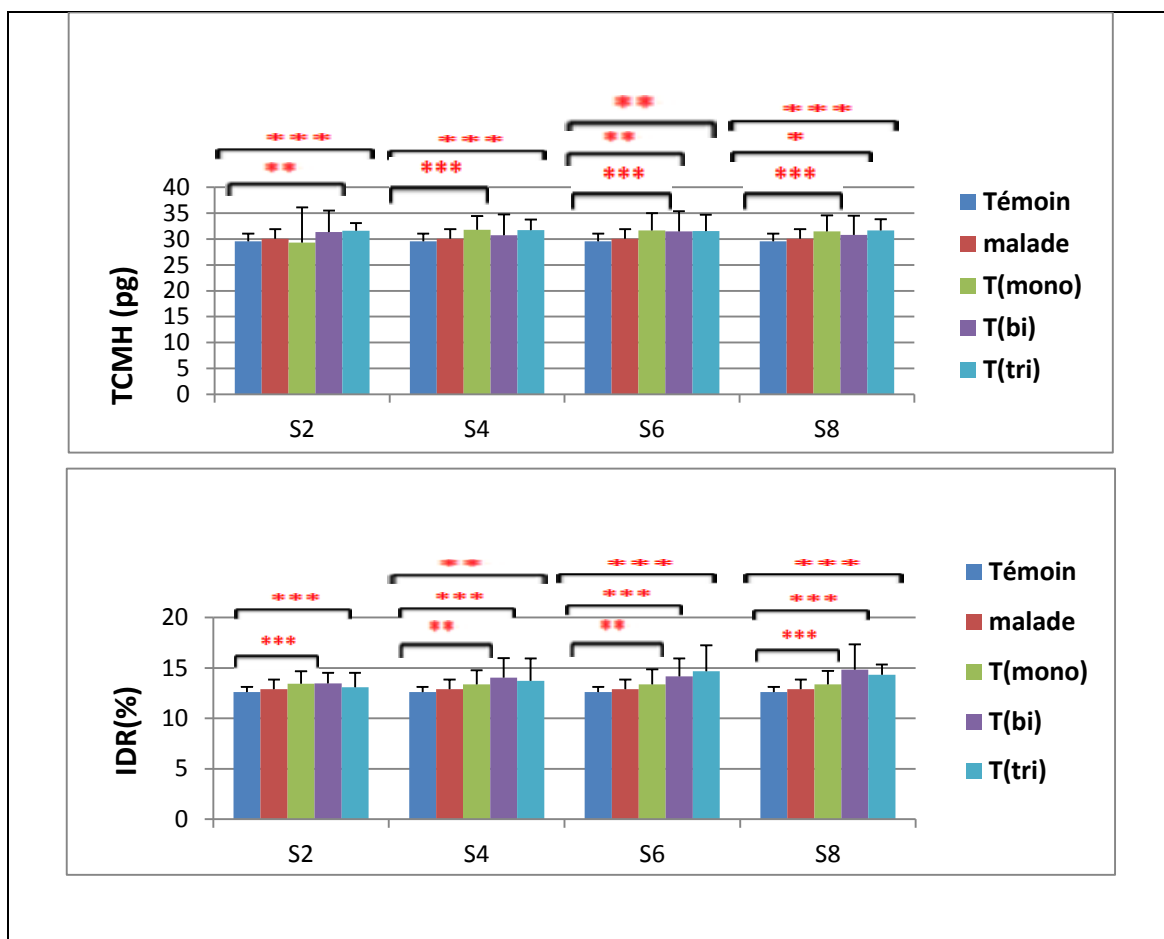


Figure 32: Variation des paramètres érythrocytaire GR, VGM, HGB, TCMH, HCT et IDR chez les sujet sain, malade et traités.

2. Variation des paramètres leucocytaires chez les sujets sains, malades et traités

D'après les résultats (Tableau 6), on observe :

- Une diminution très hautement significatifs ≤ 0.001 du nombre des globules blanc (GB) chez les sujets traités (Trithérapie « S2, S4, S6, S8 ») par rapport aux sujets sains.
- Une diminution très hautement significatifs ($p \leq 0.001$) des lymphocytes (LYM) chez les sujets traités (Trithérapie « S2 et S4 ») par rapport aux sujets sains.
- Une augmentation très hautement significatifs ($p \leq 0.001$) des granulocytes (GRN) chez les sujets traités (Bithérapie « S6 et S8 », Trithérapie « S8 ») comparativement aux sujets sains aussi Une augmentation très significatifs ($p \leq 0.01$) chez les sujets malades et traités (monothérapie « S2 et S4 ») par rapport au sains.
- Une diminution très hautement significatifs ($p \leq 0.001$) des monocytes (Mono) chez les sujets malades et traités (Monothérapie, bithérapie « S2, S4, S6 et S8 ») et (Trithérapie « S4, S6, S8 ») par rapport aux sains.

Tableau 07 : Variation des paramètres leucocytaires chez les sujets sains, malades et traités.

	paramètre patients	GB (10 ³ /mm ³)	Lym%	Mono%	Gra%
	T	6.539±1.687	35.361±8.606	14.492±3.746	50.247±8.829
	M	6.490±1.464 Ns	35.736±6.124 Ns	11.136±3.432 ***	55.039±6.992 **
T (mono)	S2	6.843 ± 2.22 Ns	35.915±7.321 Ns	7.816 ±1.510 ***	57.600±7.163 **
	S4	6.842±1.896 Ns	36.367±7.213 Ns	7.427 ± 2.299 ***	56.195±7.991 **
	S6	6.449±1.716 Ns	37.424±8.732 Ns	7.430 ± 2.123 ***	54.991±8.358 *
	S8	6.499±1.647 Ns	38.574±8.783 Ns	7.184± 2.478 ***	53.874±9.375 Ns
T (bi)	S2	6.027±1.459 Ns	34.875±3.638 **	8.695±2.970 ***	57.455±9.342 **
	S4	5.932±2.417 Ns	33.655±3.324 Ns	8.605± 3.658 ***	56.495±7.830 **
	S6	5.528±1.390 *	33.739±2.733 Ns	7.194±2.532 ***	58.472±9.862 ***
	S8	5.615±2.031 *	33.200±2.576 Ns	9.850± 3.769 ***	57.72±7.365 ***
T(Tri)	S2	4.415±1.875 ***	35.627±2.463 ***	13.660±2.445 Ns	50.21±12.65 NS
	S4	4.403±1.508 ***	34.780±2.644 ***	5.270±3.175 ***	50.47±9.329 Ns
	S6	4.055±1.605 ***	33.810±3.441 ns	5.620±2.749 ***	53.97±10.445 Ns
	S8	4.125±1.481 ***	33.690±3.201 Ns	7.890 ± 3.205 ***	55.140±8.368 ***

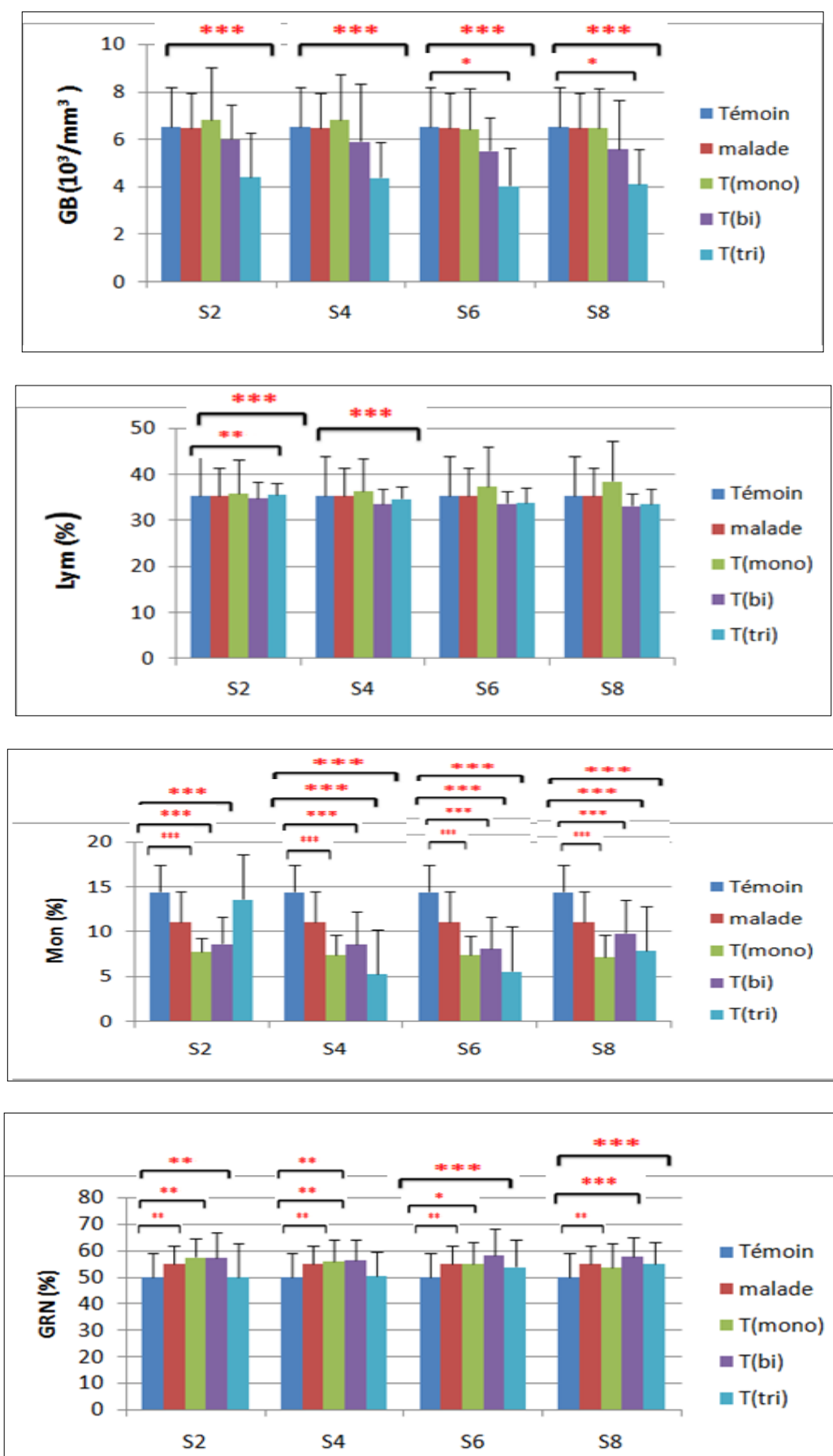


Figure 33 : variation des paramètres leucocytaires chez les sujets sains, malades et traités.

3. Variation des paramètres Thrombocytaire chez les sujets sains, malades et traités

L'analyse statistique de nos résultats (**Tableau 7**) permet de constater :

- Une diminution très hautement significatif ($p \leq 0.001$) dans le nombre des plaquettes (PLT) chez les sujets traités (Bithérapie « S2, S6, S8 ») et (Triothérapie « S4 ») par rapport au sujets sains.
- Une augmentation très hautement significatif ($p \leq 0,001$) dans le volume plaquettaire moyen (VPM) chez les sujets traités (Monothérapie « S2 », et (Bithérapie « S2 et S8 ») par rapport aux sains.

Tableau 08: Variation des paramètres Thrombocytaire chez les sujets sains, malades et traités.

	Paramètre	PLT ($10^3/mm^3$)	VPM ($10^3/mm^3$)
	Patients		
	T	235.04 ± 55.7	6.539 ± 1.687
	M	233.96 ± 54.42 Ns	6.490 ± 1.464 Ns
T (mono)	S2	243.70 ± 77.60 Ns	8.6200 ± 0.9747 ***
	S4	232.76 ± 77.50 Ns	7.9776 ± 1.1490 Ns
	S6	226.449 ± 71.6 Ns	8.1900 ± 1.0125 Ns
	S8	250.21 ± 70.4 Ns	8.1579 ± 1.2153 Ns
T (bi)	S2	154.00 ± 56.88 ***	9.060 ± 1.496 ***
	S4	180.30 ± 90.31 **	8.635 ± 1.3500 **
	S6	171.33 ± 58.46 ***	8.366 ± 1.4765 Ns
	S8	172.35 ± 54.98 ***	8.965 ± 1.2971 ***
T (Tri)	S2	178.27 ± 95.04 **	8.645 ± 1.4341 **
	S4	160.00 ± 60.64 ***	8.680 ± 1.5091 **
	S6	198.60 ± 92.45 Ns	8.700 ± 1.713 **
	S8	177.70 ± 81.52 **	8.690 ± 1.540 **

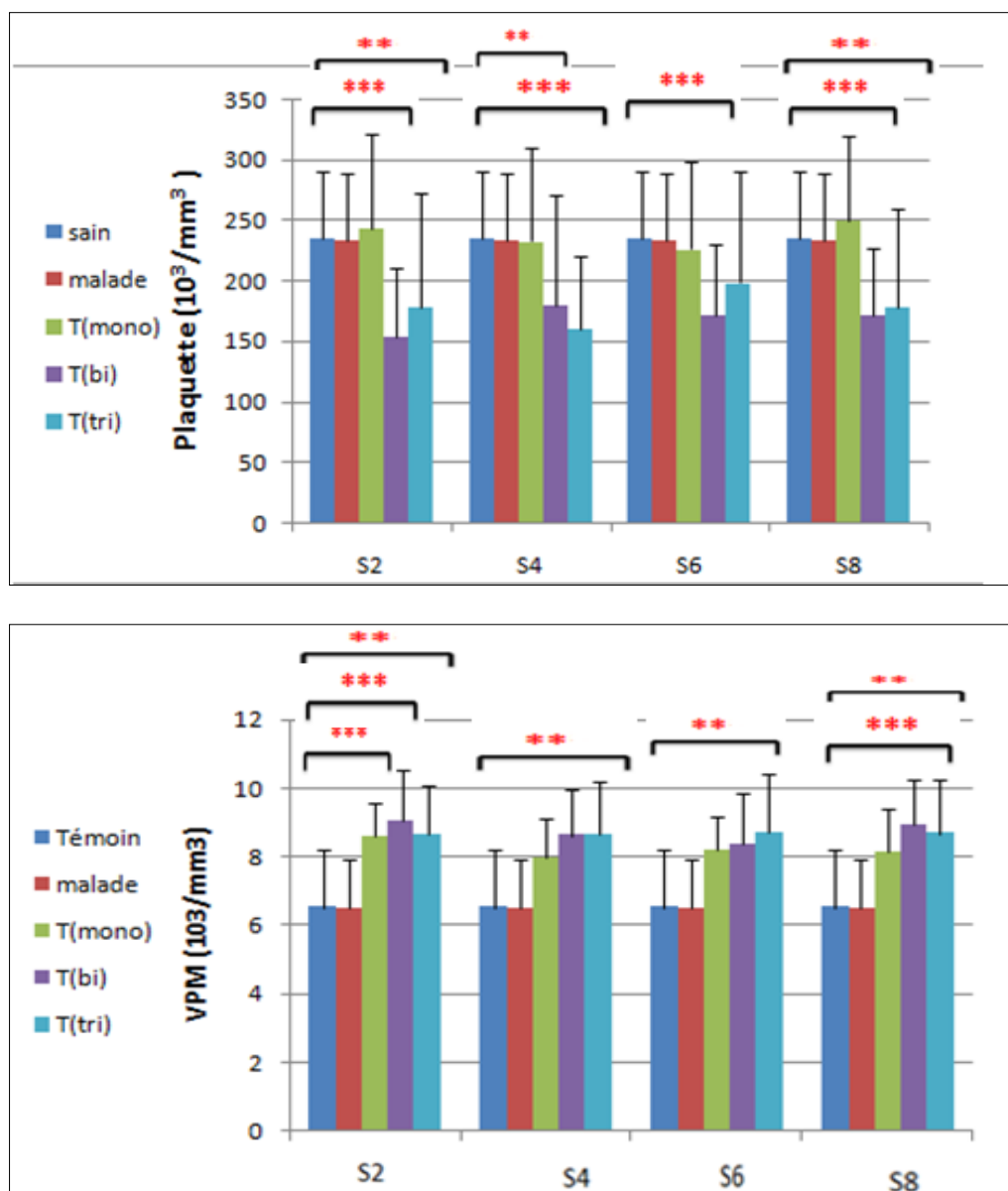


Figure 34 : Variation des paramètres Thrombocytaire (PLT et VPM) chez les sujets sains, malades et traités.

IV-Variation des paramètres biochimiques chez les sujets sains, malades et traités :

L'analyse statistique de nos résultats (**Tableau 8**) permet de constater :

- Concernant letaux de TGP : comparativement aux sujets sains on a une augmentation très hautement significative ($p \leq 0,001$) chez les sujets malades et traités (Monothérapie « S4 », bithérapie « S2 »).
- Concernant le taux de TGO : comparativement aux sujets sains on a une augmentation très hautement significative ($p \leq 0,001$) chez les sujets malades et traités (Monothérapie « S4», bithérapie « S2, S4 et S6 », trithérapie « S2 »).

- Concernant le taux de Gly : comparativement aux sujets sains on a une augmentation très hautement significative ($p \leq 0,001$) chez les sujets traités (Bithérapie « S4 », (trithérapie « S4, S6 et S8 »).

Tableau 09 : Variation des paramètres biochimiques chez les sujets sains, malades et traités.

Paramètre		TGP (UI/L)	TGO (UI/L)	Gly (g/l)
Patients				
T		18.49±6.39	19.30±5.97	0.9286±0.1181
M		48.92±49.65 ***	46.23±42.83 ***	1.0056±0.3166 Ns
T (mono)	S2	27.61±17.17 **	27.091±15.681 **	0.9845±0.3268 Ns
	S4	31.673±12.878 ***	33.895±15.182 ***	0.9660±0.2338 Ns
	S6	18.294± 6.362 ns	20.728± 7.079 Ns	0.9860±0.2948 Ns
	S8	17.054± 7.087 ns	18.435± 7.985 Ns	0.9689±0.2740 Ns
T (bi)	S2	37.23± 23.25 ***	44.71± 25.64 ***	0.9475±0.1433 Ns
	S4	28.06 ± 22.77 **	34.96± 22.68 ***	1.3435±1.7827 ***
	S6	23.117±13.430 Ns	26.680±10.259 ***	0.9556±0.1266 Ns
	S8	21.442± 7.301 Ns	24.341± 7.679 **	0.9445±0.1320 Ns
T(tri)	S2	25.041±7.141 **	27.298±10.002 ***	1.1290±0.7584 **
	S4	20.161± 9.288 Ns	24.154±14.130 Ns	1.2300±0.7918 **
	S6	24.473± 9.117 **	26.331±11.431 **	1.3050±0.9788 **
	S8	18.902± 8.998 Ns	19.872±11.377 Ns	1.1410±0.4689 **

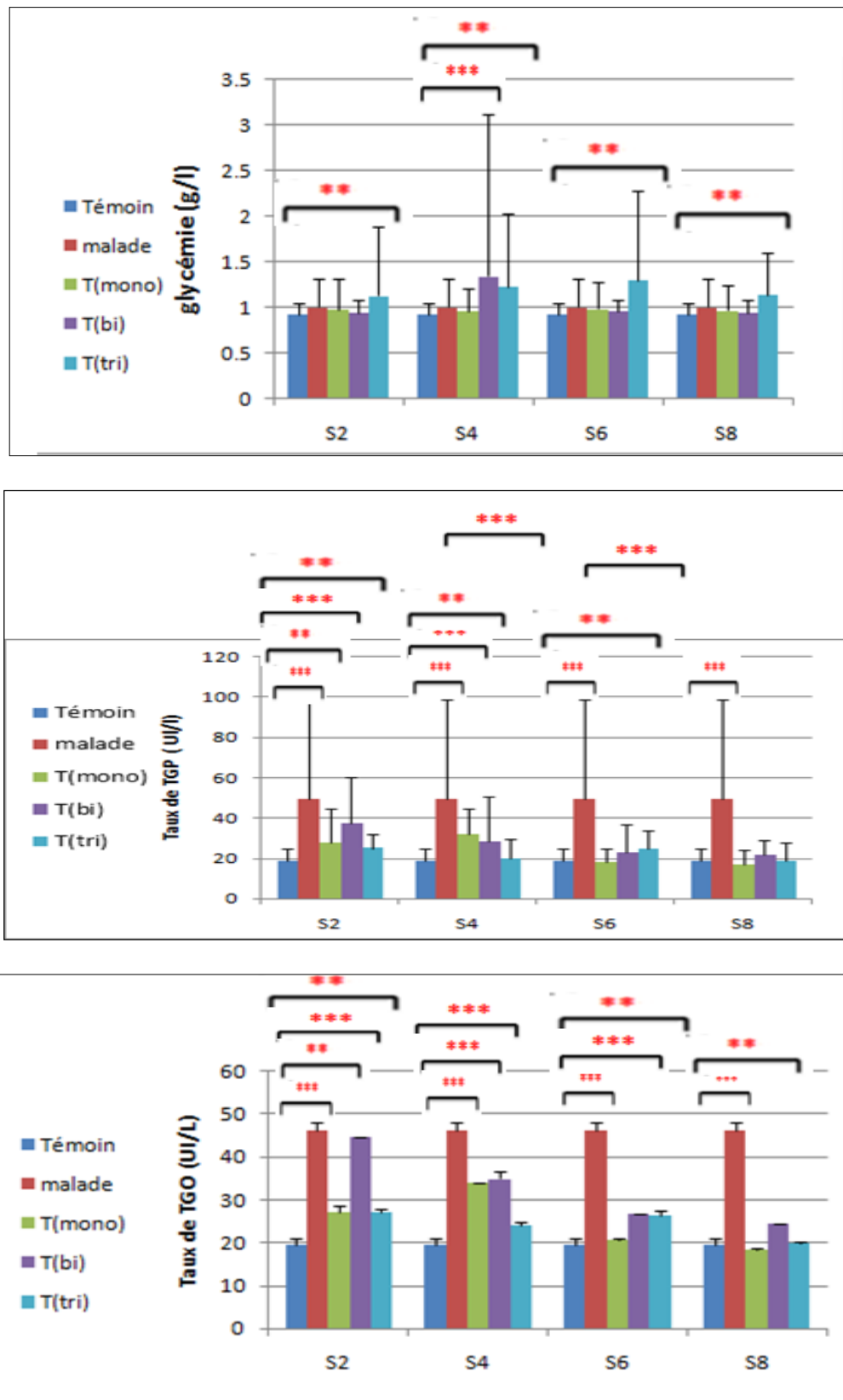


Figure 34 : Variation des paramètres biochimiques (Gly, TGP et TGO) chez les sujets sains, malades et traités.



Chapitre 04

Discussion

DISCUSSION

Dans notre échantillon de 100 malades atteints de l'hépatite C, la tranche d'âge la plus concernée par la maladie est celle située entre (46-65 ans) avec un pourcentage de 67% ceci peut être due à la faible immunité avec l'âge avancé .

Ces données sont corrélées à une classification des pays selon l'importance de la prévalence et sa distribution par âge sur la base d'une analyse des études publiées d'après (**Wasley et Alter, 2000**), qui a classé l'Algérie et un grand nombre de pays d'Afrique sub-saharienne en type 3 correspondant à une prévalence élevée dans chaque tranche d'âge et qui augmente avec l'âge expliquée par une transmission iatrogène (usage de matériels non stérilisés).

De plus, Nous avons observé dans notre population que les femmes représentaient un nombre élevé (82%) par rapport aux hommes dans la population touchée par l'hépatite C dans la région de Tébessa. cette prédominance féminine peut être liée à la grossesse qui affaiblit le système immunitaire et aussi aux certaines pratiques sociales telles : le tatouage connu pour son risque de contamination. Cependant une prédominance féminin a été rapportée dans d'autres études (**Ben Khelifa et al., 2006 ; Mejri et al., 2005**).

Aussi, on observe dans notre échantillon une nette prédominance du sous génotype **1b** (89%) suivi des autres types des sous génotypes **1a** avec 02 %, le **2** avec 06%, le **4** avec 01 %. Nos résultats sont en accord avec ceux de concordent surtout avec celle de (**Debbeche et al., 2013; Hmida et al., 1995**).

En Algérie, une récente étude publiée par (**Rouabhia et al., 2013**), sur la prévalence des génotypes du VHC réalisé sur un grand nombre de patients qui couvrent la région géographique nord-est de l'Algérie a montré que le génotype 1b était significativement prédominant avec 86.2% suivi par le génotype 2 avec 8.5%.

La détermination de la charge virale du VHC n'a pas d'intérêt dans le diagnostic des infections par le VHC. En revanche, elle prend toute son importance à la fois dans le bilan pré thérapeutique et dans le suivi thérapeutique des patients atteints d'hépatites C chroniques Dans notre série la RT-PCR quantitative a été effectué chez tous les malades, elle a révélé: Une forte charge virale ($CV \geq 600.000$ UI /ML) chez 61 % des patients testés, une faible charge virale chez 39%, ces résultats sont conformes à ceux de la littérature. Dans des séries nationales on a trouvé, une forte charge virale chez 49 % des patients (Fès, Rabat) (**Noudrine, 2006**).

L'hémogramme est un examen biologique peu coûteux et très prescrit en pratique clinique. Dans le domaine particulier de l'urgence, une indication courante à sa prescription est la recherche de signes indirects d'infection. Celle-ci peut, en effet, être un critère déterminant dans la prise en charge du patient (**Kaminsky et al., 2002**).

Nos résultats montrent une baisse significative de nombres des GR et le teneur en HGB, ainsi que le pourcentage en HTC chez les sujets atteints sous traitement par la bithérapie et trithérapie par rapport aux sujets sains, ce qui montre la présence de l'anémie chez ces sujets. Cette baisse érythrocytaires a été expliquée par l'augmentation du volume plasmatique et l'expansion de la masse des globules rouges au regard des taux d'hématocrite et des concentrations d'hémoglobine en dessous du seuil limite fait reconnaître l'anémie.

De plus, Nos résultats montrent une augmentation significative de taux des VGM, TCMH et IDR ce qui révèle qu'on a une anémie de type hémolytique.

En outre, nous avons constaté que seulement la Bithérapie (Sofosled de plus Ribavirine) et la Trithérapie (Sofosbivure de plus Ribavirine de plus INF peg) qui augmentent les risques d'anémie par contre la monothérapie aucun risque observé, ceci est liées principalement à l'action du ribavirine et l'INF PEG ou à en raison de la prédisposition génétique.

Le ribavirine qu'est un analogue nucléosidique de la guanosine, après son administration orale, il est absorbé au niveau du grêle proximal grâce à des transporteurs du sodium (**Glue, 1999**). Après cette absorption, le temps moyen pour atteindre la concentration maximale est de 1,5 heure, ensuite survient une phase de distribution rapide et une phase d'élimination prolongée (**Khakoo et al., 1998**). La ribavirine est ensuite transportée au niveau de toutes les cellules humaines puis phosphorylée, la ribavirine triphosphate est le métabolite principal ; le transport vers le milieu extracellulaire nécessite une déphosphorylation de la ribavirine. Cette propriété est déficiente au niveau érythrocytaire, ce qui explique le défaut de déphosphorylation de la molécule et donc son accumulation dans les érythrocytes ce qui induit une hémolyse érythrocytaire. (**Dimitrow et al., 1997**).

L'interféron contribue aussi à un moindre degré à l'anémie en agissant comme myélosuppresseur et en inhibant la production de l'érythropoïétine, en plus, l'INF peut accroître l'apoptose de cellules précurseur de la lignée érythroblastique, induire une hémolyse auto-immune et aggraver la fonction rénale (**Balan et al., 2005**).

De plus, (**Kamatani et al., 2010**) ont découvert que les variantes génétiques qui causent des déficiences dans la production d'une enzyme appelé gène de l'inosine triphosphate pyrophosphatase (ITPA) affecte la ribavirine qui induit l'anémie.

Nos résultats sont similaires avec celle de **Watson et al. (2010)** qui ont été reporté que 39% des patients traités par interferon et ribavirine développent une anémie, et avec les travaux de (**Franceschi et al., 2000 ; Sheeja et al., 2011 ; Sulkowski, 2003**).

Cependant, nos résultats montrent que la présence d'une Thrombopénie chez les malades recevant la bithérapie et la trithérapie qui est révélées par la diminution de nombre des

plaquettes. Ceci est liée à l'action de myélosuppresseur de l'IFN qui supprime l'expression des facteurs de transcription régulant la mégacaryopoïèse en stade tardif, tels que GATA-1, p45NF-E2, Maf G qui réduisent le nombre de la PLT dans le sang périphérique mais pas les mégacaryocytes (**Abdel Hafez *et al.*, 2014**). de plus, dans l'année (2010) Stellacci et al ont déclaré que l'IFN inhibe la maturation des membranes de démarcation dans le mégacaryocyte.

Le mécanisme auto-immunitaire peut être également impliqué (**Mihai *et al.*, 2010**), à raison de la transduction du signal thrombopoïétine relative dans les mégacaryocytes (**Peck-Radosavljevic *et al.*, 2007**). Environ 46% des patients recevant l'IFN et la ribavirine ont présenté une thrombocytopénie avec un nombre de plaquettes inférieur à 500 nécessitant une réduction de la dose pendant le traitement (**Renou *et al.*, 2005**) de sorte que le faible nombre de plaquettes augmente l'incidence de la thrombocytopénie associée au traitement antiviral (**Dourakis *et al.*, 2006**).

Nos résultats sont en accord avec les travaux de :

- **Manns *et al*(2001) et Friedet *al.*,(2002)**, qui ont été trouvés une thrombopénie dans 10 à 50% des cas d'hépatites C traités par l'interféron pégylés.

-**Nemr *et al*, (2016)**, qui ont trouvé que le traitement par ribavirine induit une thrombocytopenie chez les patients égyptiens atteints de l'hépatite C.

-**Nese *et al*, (2009)**, qui ont été montrés la présence d'une thrombocytopénie après le traitement des patients par ribavirine+ INF pégylé.

Dans la présente étude, nous avons constaté une Leucopénie chez les malades traités par la Trithérapie qui traduit par la baisse très hautement significative du nombre de GB et des lymphocytes ainsi que les monocytes, et une augmentation très significative des granulocytes.

La neutropénie chez les patients atteints du VHC et recevant un traitement par IFN et ribavirine a montré que 8% -24% de ces patients développent une neutropénie. Ils ont montré que les neutrophiles et les lymphocytes absolus diminuent généralement de 30% à 50% de la ligne de base pendant le traitement (**Antonini *et al.*, 2010**). Bien que la neutropénie est fréquente pendant le traitement contre le VHC, il n'a pas été jugé commun y associé à infections (**Navas *et al.*, 2010**).

Concernant les paramètres biochimiques nous avons trouvé dans notre étude une augmentation très hautement significatives du taux des transaminases TGO et TGP chez les sujet malade et les traités au début de traitement ce qui reflète la présence d'une lésion cellulaire, en particulier au niveau hépatique.

Par contre, nous avons constaté une diminution des TGO et TGP chez les sujets traités ce qui montre l'efficacité des traitements utilisés.

Il a été rapporté que Chez les patients atteints d'une infection chronique par le VHC, le traitement par le ribavirine améliore les taux sériques de transaminases hépatiques et l'histologie hépatique en diminuant l'inflammation hépatique et la nécrose (**Di Bisceglie et al., 1995 ; Camps et al., 1993**).

De plus, une augmentation significative du taux de la glycémie a été observée dans notre travail chez les sujets recevant la Trithérapie ce qui augmente les risques de diabète chez ce groupe.

Le traitement du VHC avec l'alfa-interféron a également été signalé pour induire des maladies auto-immunes telles comme l'hépatite auto-immune, la thyroïdite de Hashimoto et diabète à médiation immunitaire (**Allison et al., 1994 ; Radhakrishnan et al., 2005**). La plupart des rapports de diabète mellitus dans cette situation se produisent dans quelques semaines après le début du traitement (**Caronia et al., 1999 ; Fabris et al., 1998**).

Tosone et al., 2007 ont été rapporté le cas d'une femme de 42 ans atteinte d'hépatite C chronique (génotype 1), qui a débuté en juin 2004 un traitement par l'interféron alpha pégylé (PEG-IFN α) associé à la ribavirine. Deux mois plus tard, elle a arrêté le traitement en raison de diabète de type 1 avec acidocétose, et l'insulinothérapie a commencé.

Conclusion

CONCLUSION

L'apparition des nouveaux antiviraux directs est une véritable révolution thérapeutique elle permet de nos jours la guérison de l'hépatite C chez la majorité des patients, mais ces traitements s'accompagne de nombreux effets secondaires qui entraînent fréquemment une diminution de la posologie, voire un arrêt des traitements

Au terme de cette étude qui a été réalisée dans la région de Tébessa nous pouvons conclure que :

-L'infection par le VHC touche le tranche d'âge située entre (46-65 ans) avec un pourcentage de 67% et une prédominance féminine 82%.

- Une nette prédominance du génotype 1b avec un pourcentage (89%).

-La bithérapie (Sofosled+Ribavirine) et la trithérapie (Sofosbivure de plus Ribavirine de plus INFpeg) induisent une forte toxicité hématologique (Anémie, thrombopénie et leucopénie) alors que dans la monothérapie (sofosled) une faible toxicité a été remarquée.

-Les malades recevant la trithérapie présenterait le risque du diabète.



References
bibliographiques

- Abdel Hafez, H., El Beshlawy, M., Mabrouk, M., El-Akel, W., Awad T Zayed, N. & Esmat, G. (2014).** Hematological Side effects of Anti-viral Therapy in Egyptian Patients with Chronic Hepatitis C Virus. *Am. J. PharmTechRes.* 4(1) : 2249-3387.
- AFEF (Association Française pour l'Etude du Foie). (2017).** Recommandations AFEF sur la prise en charge des hépatites virales C.
- Agnello, V. & Abel, G. (1999).** Hepatitis C virus and other flaviviridae viruses enter cells via low density lipoprotein receptor. *Proc Natl Acad Sci US A* 96(22): 12766- 71.
- Aikawa, T., Kojima, M., Onishi, H., Tamura, R., Fukuda, S. & Suzuki, T. (1996).** HLA DRB1 and DQB1 alleles and haplotypes influencing the progression of hepatitis C. *J Med Virol* 49:274-8.
- Allison, M.D., Wreghitt, T., Palmer, C.R. & Alexander, G.J.M. (1994).** Evidence of a link between hepatitis C virus infection and diabetes mellitus in a cirrhotic population. *JHepatol* 21:1135-1139.
- Allison, M.D., Wreghitt, T., Palmer, C.R. & Alexander, G.J.M. (1994).** Evidence of a link between hepatitis C virus infection and diabetes mellitus in a cirrhotic population. *JHepatol* 21:1135-1139.
- Alter, H.J., Purcell, R.H., Shih, J.W., Melpolder, J.C., Houghton, M., Choo, Q.L. & Kuo, G. (1989).** Detection of antibody to hepatitis C virus in prospectively followed transfusion recipients with acute and chronic non-A, non-B hepatitis. *N Engl J Med* 321 : 1494-1500.
- Ando, K., Hirroishi K-kaneko, T., Moriyama T-Muto, Y. & Kayagaki, N. (1997).** Fas/Fas Ligand, and TNF-alpha pathways as specific and bystander killing mechanisms of hepatitis C virus-specific human CTL. *J Immunol* 158:5283-91.
- Antaki, N., Craxi, A., Kamal, S., Moucari, R., Van Der Merwe, S., Haffar S. (2010).** The neglected hepatitis C virus genotypes 4, 5, and 6: an international consensus report. *Liver Int* 30 : 342-355.
- Antonini, M.G., Babudieri, S. & Maida, I. (2008).** Incidence of neutropenia and infections during combination treatment of chronic hepatitis C with pegylated interferon alpha plus ribavirin. *Infection* 36 (4): 250-255.
- Appel, N., Zayas, M., Miller, S., Krijnse-Locker, J., Schaller, T. & Friebe, P. (2008).** Essential role of domain III of non-structural protein 5A for hepatitis C virus infectious particle assembly. *PLoS Pathog* 4:1000035.

- Arnaud, R. (2002).** Les différents interférons : Pharmacologie, mécanismes d'action, tolérance et effets secondaires. *Different interferons: Pharmacology, pharmacokinetics, proposed mechanisms, safety and side effects. La Revue de Médecine Interne* 23 : 449-458.
- Asselah, T. (2007). Hépatite chronique C : Les stratégies thérapeutiques actuelles. *J SIDA* 199 :13-6.
- Asselhal, T., Boyer, N. & Marcellin, P (2003).** Traitement de l'hépatite C. *EMC Hépatologie* 7 : 015-B-5.
- Association Française pour l'Etude du Foie (AFEF). (2016).** Recommandations AFEF sur la prise en charge des hépatites virales C Février.
- Association Française pour l'Etude du Foie (AFEF). (2017)** .Recommandations AFEF sur la prise en charge des hépatites virales C .
- Association Française pour l'Etude du Foie (AFEF). (2015).** l'Avis d'expert n° 6 Juin.
- Association Française pour l'Etude du Foie (AFEF). (2015).** Recommandations AFEF sur la prise en charge des hépatites virales C. Available from 150527-184857.

-B-

- Bacon, BR., Gordon, SC., Lawitz, E., Marcellin, P., Vierling, JM. & Zeuzem, S. (2011).** Boceprevir for previously treated chronic HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med* 364:1207-1217.
- Balan, V., Schwartz, D., Wu, GY., Muir, AJ ., Ghalib, R., Jackson, J., Keeffe, EB., Rossaro, L., Burnett, A., Goon, BL., Bowers, PJ. & Leitz, GJ . (2005).** Erythropoietic response to anemia in chronic hepatitis C patients receiving combination pegylated interferon/ribavirin.; HCV Natural History Study Group. *Am J Gastroenterol* 100(2):299-307.
- Barrera, JM., Bruguera, M., Ercilla, MG ., Gil, C., Celis, R. & Gil, MP. (1995).** Persistent hepatitis C viremia after acute self-limiting posttransfusion hepatitis C. *Hepatology* 21: 639-644.
- Bartenschlager, R., Lohmann, V., Wilkinson, T. & Koch, JO. (1995).** Complex formation between the NS3 serine-type proteinase of the hepatitis C virus and NS4A and its importance for polyprotein maturation. *J Virol* 69 : 7519-7528.
- Bartosch, B., Dubuisson, J. & Cosset, F.L. (2003).** Infectious hepatitis C virus pseudo-particles containing functional E1E2 envelope protein complexes. *J Exp Med* 197: 633-642.
- Ben Khélifa, H., Gorgi, Y., Sfar, I., Hssairi, M. & Ayed, K. (2006).** Prévalence du portage chronique des virus B, D et C en Tunisie. Résultats d'une enquête Nationale. Xème Congrès National de la Société Tunisienne de Gastroentérologie. *Livre des résumés* ; p 30 : A 23 .

Benhabyles, A., boughoufalah. & hannoun, D. (2007). *relevé épidémiologique annuel*. institue national de sante public .r.e.m., vol xviii 5 : 3-9.

Blanchard, E., Belouzard, S., Goueslain, L., Wakita, T., Dubuisson, J. & Wychowski, C.(2006).

Blight, KJ., Kolykhalov, AA., Rice, CM. (2000). Efficient initiation oh HCV RNA replication in celle culture. *Science* 290 : 1972-1974.

Borden, EC., Sen, GC., Uze, G., Silverman, RH., Ransohoff, RH. & Foster, GR. (2007). Interferons at age 50: past, current and future impact on biomedicine. *Nat Rev Drug Discov* 6 : 975-

Boulant, S., Montserret, R., Hope, RG., Ratinier, M., Targett-Adams, P. & Lavergne, JP. (2006). Structural determinants that target the hepatitis C virus core protein to lipid droplets. *J BiolChem* 281: 22236-22247.

Boulant, S., Vanbelle, C., Ebel, C., Penin, F. & Lavergne, JP. (2005). Hepatitis C virus core protein is a dimeric alpha-helical protein exhibiting membrane protein features. *J Virol* 17: 11353- 11365.

Bourliere, M. & Benhamou Y. (2011). Perspectives thérapeutiques dans le traitement du VHC -Les agents antiviraux directs 56 p.

Bourliere, M. (2008). Les nouvelles molécules anti-VHC : quand seront-elles disponibles et comment ? Journées en Hépatologie du Centre Hépat- Biliaire,14 p.

Braitstein, P., YIP, B. & Montessori, V. (2005). Effect of serostatus for hepatitis C virus on mortality among antiretrovirally naive HIV-positive patients. *CMAJ* 173(2):160-4.

Brasset, V., Berke, JM., Montserret, R., Blum, HE., Penin, F. & Moradpour, D. (2008). Structural de terminants for membrane association and dynamic organization of the hepatitis C virus NS3-4A complex. *Proc NatlAcadSci USA* 105 : 14545-14550.

Bressanelli, S., Tomei, L., Roussel, A., Incitti, I., Vitale, RL. & Mathieu, M. (1999). Crystal structure of the RNA-dependent RNA polymerase of hepatitis C virus. *ProcNatlAcadSci USA*96 : 13034-13039.

Bressanelli, S., Tomei, L., Rey, FA. & De Francesco, R. (2002). Structural analysis of the hepatitis C virus RNA polymerase in complex with ribonucleotides. *J Virol* 76 : 3482-3492.

-C-

Cacoub, P., Benhamou, Y. (2002). Place des interférons dans le traitement des infections par les virus de l'hépatite B et de l'hépatite C .*Revue de médecine interne* 23(4) : 459-474.

Camps, J., García, N., Riezu-Boj, JL, Civeira, MP. & Prieto, J.(1993). Ribavirin in the treatment of chronic hepatitis C unresponsive to alfa interferon. *J Hepatol*19 : 408-412.

Caronia, S., Taylor, K., Pagliaro, L., Carr, C., Palazzo, U. & Petrik, J. (1999). Further evidence for an association between non-insulin-dependent diabetes mellitus and chronic hepatitis C virus infection. *Hepatology* 0: 1059–1063.

Chen, S.L. & Morgan, T.R. (2006). The natural history of hepatitis C virus (HCV) infection. *Int J Med Sci* 3 : 47-52.

Choo, Q. L., K. H. Richman., J. H. Han., K. Berger., C. Lee., C. Dong., C. Gallegos.,

-D-

D. Coit., R. Medina-Selby. & P. J. Barr.(1991). Genetic organization and diversity of the hepatitis C virus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 88 : 2451-5.

De Franceschi, L., Fattovich, G., Turrini, F. & Corrocher, R. (2000). **Hemolytic anemia induced by ribavirin therapy in patients with chronic hepatitis C virus infection: Role of membrane oxidative damage.** *Hepatology.* 31(4):997-1004.

De Francesco, R. & Migliaccio, G. (2005). Challenges and successes in developing new therapies for hepatitis C. *Nature* 436 : 953-960.

Debbeche, R., Said, Y., Ben Temime, H., El Jery, K., Bouzaidi, S., Salem, M. & Najjar, T. (2013). **Epidemiology of hepatitis C in Tunisia.** *Tunis Med. Feb* 91(2):86-90.

Desenclos, J.C. (2003). L'infection par le virus de l'hépatite C dans le monde: importance en santé publique, modes de transmission et perspectives. *Virologie* 3 : 177-191.

Di Bisceglie AM, Conjeevaram HS, Fried MW, Sallie R, Park Y, Yurdaydin C, Swain M, Kleiner DE, Mahaney K, Hoofnagle JH. 1995. Ribavirin as therapy for chronic hepatitis C. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Intern Med.* 123:897–903.

Dimitrow, Y., Heibel, F., Marcellin, L., Chantrel, F., Moulin, B. & Hanne-douche. (1997). Acute renal failure and nephrotic syndrome with alpha interferon therapy. *Nephrol Dial Transplant.* 12:200-3.

Domingo, E. (1998). Quasispecies and the implications for virus persistence and escape. *Clin Diagn Virol* 10 : 97-101.

Domingo, E., Martin, V., Perales, C., Grande-Perez, A., Garcia-Arriaza, J. & Arias, A. (2006). Viruses as quasispecies: biological implications. *Curr Top Microbiol Immunol* 299: 51-82.

Donahue, J.G., Munoz, A., Ness, P.M., Brown, D.E., Jr., Yawn, D.H., McAllister, H.A., Jr., Reitz, B.A. & Nelson, K.E. (1992). The declining risk of post-transfusion hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 327: 369-373.

Dourakis, SP., Deutsch, M. & Hadziyannis, SJ. (2006). Thrombocytopenia and interferon therapy. *J Hepatol* 25(4): 972- 975.

Duarte, E.A., Novella, I.S., Weaver, S.C., Domingo, E., Wain-Hobson, S., Clarke, D.K., Moya, A., Elena, S.F., de la Torre, J.C. and Holland, J.J. (1994). RNA virus quasispecies: significance for viral disease and epidemiology. *Infect Agents Dis* 3 : 201-214.

Dubuisson J., Francois, Helle. & Laurence, Cocquerel. (2008). Early steps of the hepatitis C virus life cycle. *Cellular microbiology* 10 (4) : 821-827.

Dubuisson, J. (2007). Hepatitis C virus proteins. *World J Gastroenterol* 13(17) : 2406-2415.

-E-

Egger, D., Wolk, B., Gosert, R., Bianchi, L., Blum, HE. & Moradpour, D. (2002). Expression of hepatitis C virus proteins induces distinct membrane alterations including a candidate viral complex. *J virol* 76 : 5974-5984.

Eng, F., Branch, A. D., Stump, D. D. & Gutierrez, J. (2007). A novel IRES in the core encoding region stimulates production of mini-core, a small protein comprised of the C terminal portion of the core protein, in 14.

European Association for the Study of the Liver (EASL). (2015). **Recommandations de l'EASL sur le traitement de l'hépatite C 2015.** *Journal of Hepatology* 63 : 199-236.

Eyre, NS., Baumert ,TF. & Berad, MF. (2009). Closing the gap: the tight junction protein occluding and hepatitis C virus entry. *Hepatology* 49 : 1770-1772.

-F-

Fabris, P., Betterle, C., Greggio, NA., Zanchetta, R., Bosi, E. & Biasin, MR. (1998). Insulin-dependent diabetes mellitus during alpha-interferon therapy for chronic viral hepatitis. *J Hepatol* 28 : 514-517.

Failla, C., Tomei, L. & De Francesco, R. (1994). Both NS3 and NS4A are required for proteolytic processing of hepatitis C virus nonstructural proteins. *J Virol* 68 : 3753-3760.

Fang, J.W., Chow, V. & Lau, J.Y. (1997). Virology of hepatitis C virus. *Clin Liver Dis* 1 : 493-514.

Farci, P., Shimoda, A., Wong, D., Cabezon, T., De Gioannis, D., Strazzera, A., Shimizu, Y., Shapiro, M., Alter, HJ. & Purcell, RH. (1996). **Prevention of hepatitis C virus infection in chimpanzees by hyperimmune serum against the hypervariable region 1 of the envelope 2 protein.** *Proc Natl Acad Sci U S A* 93(26) : 15394-9.

Feld, JJ. & HOOFNAGLE, JH. (2005). **Mechanism of action of interferon and ribavirin in treatment of hepatitis C.** *Nature* 436(18) : 967-72.

Fournier, C., Souvignet, C., Merle, P., Miaillhes, P., Lack, P. & Trepo, C. (2008). Traitement de l'hépatite C. *EMC hépato* 7 : 015-B-50.

Foutrein, P., Lucidarme, D., Muysen, A., Vandermolen, P., Danel, T., Bailly, B. & Filoche, B. (1993). Prévalence des hépatites B et C et du VIH dans une population de toxicomanes intraveineux de l'agglomération lilloise. *Gastronérologie Clinique et Biologique* 17 : 282.

Fraser, CS. & Doudna, JA. (2007). Structural and mechanistic insights into hepatitis C viral translation initiation. *Nat Rev Microbiol* 1 : 29-38.

Fried, MW., Shiffman, ML., Reddy, KR., Smith, C., Marinos, G. & Gonçales, FL. Jr. (2002). Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 347:975-82.

-G-

Gale, M. & Foy, EM. (2005). Evasion of intracellular host defence by hepatitis C virus. *Nature* 436: 9345.

Gale, M., Korth, MJ. & Katze, MG. (1998). Repression of the PKR protein kinase by the hepatitis C virus NS5A protein a potential mechanism of interferon resistance. *Clin Diagn Virol* 10 : 157- 162.

Gastroenterol Clin Biol 26 : 742-7.

Germi, R., Crance, J.M. & Garin, D. (2001). Les récepteurs du virus de l'hépatite C : données actuelles. *Gastroenterol. Clin Biol* 25 : 1011-1015.

Glue, P. (1999). The clinical pharmacology of ribavirin. *Seminars in Liver Disease* 19 : 17-24

Gordien, E. (2003). Virus de l'hépatite C : dynamique, réplication intracellulaire. Elsevier SAS : 13-26.

Gournay, J. & Richou, C. (2002). Traitement de l'hépatite chronique C : effets secondaires, tolérance et qualité de vie. *Gastroenterol Clin Biol* 26:B60-B75.

Grakoui, A., Mccourt, D. W. & Wychowski, C, (1993) : Characterization of the hepatitis C virus-encoded serine proteinase: determination of proteinase-dependent polyprotein cleavage sites. *J. Virol* 67(5) : 2832-2843.

Grando-Lemaire, V. & Trinchet, JC. (2003). Histoire naturelle de l'infection par le virus de l'hépatite C. *Elsevier SAS* : 77-88.

-H-

Haqshenas, G., Mackenzie, JM., Dong, X. & Gowans, EJ. (2007). Hepatitis C virus p7 protein is localized in the endoplasmic reticulum when it is encoded by a replication-competent genome. *J Gen Virol* 88 : 134-142.

Haute autorité de santé (HAS). (2014). Prise en charge de l'hépatite C par les médicaments anti-viraux à action directe (AAD).

Helle, F. & Cocquerel, L. (2008). L'entrée du virus de l'hépatite C dans ses cellules cibles. *Virologie* 12 (2) : 105-116

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

Hiroishi, K., Kita, H., Kajima, M., Okamoto, H., Moriyama, T. Kaneko, T. (1997). Cytotoxic T lymphocyte response and viral load in hepatitis C virus infection. *Hepatology* 25 : 6037-41.

Hmida, S., Mojaat, N. & Chaouchi, E. (1995). HCV antibodies in hemodialyzed patients in Tunisia. *PatholBiol* 43:581-3.

Hugle, T., Fehrmann, F., Bieck, E., Kohara, M., Krausslich, HG., Rice, CM., Blum, HE & Moradpour, D. (2001). The hepatitis C virus nonstructural protein 4B is an integral endoplasmic reticulum membrane protein. *Virology* 284 : 70-81.

-I-

Ivashkina, N., Wolk, B., Lohmann, V., Bartenschlager, R., Blum, HE. & Penin, F. (2002). The hepatitis C virus RNA dependent RNA polymerase membrane insertion sequence is a transmembrane segment. *J Virol* 76 : 13088-13093.

-J-

Jackel-Cram, C., Babiuk, LA. & Liu, Q. (2007). Up-regulation of fatty acid synthase promoter by hepatitis C virus core protein: genotype-3a core has a stronger effect than genotype-1b core. *J Hepatol* 6 : 999-1008.

Jacobson, IM., McHutchison, JG., Dusheiko, G., Di Bisceglie, AM., Reddy, KR. & Bzowej NH. (2011). Telaprevir for previously untreated chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 364: 2405-2416.

Jhaveri R, Qiang G, Diehl AM. Domain 3 of hepatitis C virus core protein is sufficient for intracellular lipid accumulation. *J Infect Dis* 2009, 11: 1781-1788.

Jones, CT., Murra, CL., Eastman, DK. & Tassello, J. (2007). Rice CM. Hepatitis C virus p7 and NS2 proteins are essential for production of infectious virus. *J Virol* 81 : 8374-8383.

-K-

Kamatani, N., Nakamura, Y. & Miyakawa, Y. (2010). influence of inosine triphosphatase gene (ITPA) polymorphism on decrease of hemoglobin during treatment with pegylated interferon, ribavirin and telaprevir. *Hepatol* 40 (5): 1450-1458.

Khakoo, S., et al. (1998). Ribavirin and interferon alfa-2b in chronic hepatitis C : assessment of possible pharmacokinetic and pharmacodynamic interactions. *Br J Clin Pharmacol* 46 : 563-570.

King, NJ. & Kesson, AM. (1988). Interferon- independent increases in classes in class I major histocompatibility complex antigen expression follow flavivirus infection. *J Gen Virol* 69 : 2535-43.

Klein, KC., Dellos, SR. & Lingappa, JR. (2005). Identification of residues in the hepatitis C virus core protein that are critical for capsid assembly in cell-free system. *J Virol* 11 : 6814-6826.

Koch, JO. & Bartenschlager, R. (1999). Modulation of hepatitis C virus NS5A hyperphosphorylation by nonstructural proteins NS3, NS4A, and NS4B. *J Virol* 73 : 7138-7146.

Kolykhalov, A.A., S.M. Feinstone. & C.M. Rice, (1996). Identification of a highly conserved sequence element at the 3' terminus of hepatitis C virus genome RNA. *J Virol* 70(6) : 3363-71.

Kolykhalov, AA., Mihalik, K., Feinstone, SM. & Rice, CM. (2000). Hepatitis C virus-encoded enzymatic activities and conserved RNA elements in the 3' non translated region are essential for virus replication in vivo. *J Virol* 74 : 2046-2051.

Kramp, ME., Carucci, P., Underhill, J., Naoumov, NV., Williams, R. & Donaldson, PT. (1998). Association between HLA class 2 genotype and spontaneous clearance of hepatitis C viraemia. *J Hepatol* 29: 207-13.

Krekulova, L., Rehak, V. & Riley, LW. (2006). Structure and functions of hepatitis C virus proteins: 15 years after. *Folia Microbiol* 51 : 665-680.

Kuzushita, N., Hayashi, N., Katayama, K., Hiramatsu, N., Yasumaru, M. & Murata, H. (1996). Increased frequency of HLA DR13 in hepatitis C virus carriers with persistently normal ALT levels. *J Med Virol* 48 : 1-7.

-L-

Lam, AM. & Frick, DN. (2006). Hepatitis C virus subgenomic replicon requires an active NS3 RNA helicase. *J Virol* 80: 404-411.

Lavillette, D., Pecheur, EI., Donot, P., Fresquet, J., Molle, J. & Corbeau. (2007). Characterization of fusion determinants points to the involvement of three discrete regions of both E1 and E2 glycoproteins in the membrane fusion process of hepatitis C virus. *J virol* 81 : 8752- 8765.

Lédinghen, V. (2002). Natural history of hepatitis C virus infection. *Gastroenterol Clin Biol* No 2: B9-22.

Legrand-Abravanel, F. & Izope, T. J. (2008). Recombinaison génétique et virus de l'hépatite C. *Virologie* 12 (1) : 7-14.

- Lenzi, M., Frisoni, M., Mantovani, V., Ricci, P., Muratori, L. & Francesconi, R. (1998).** Haplotype HLA-B8-DR3 confers susceptibility to hepatitis C virus-related mixed cryoglobulinemia. *Blood* 91 : 20626.
- Lerat, H., Rumin, S., Habersetzer, F., Berby, F., Trabaud, M.A., Trépo, C. & Inchauspé, G. (1998).** In Vivo Tropism of Hepatitis C Virus Genomic Sequences in Hematopoietic Cells: Influence of Viral Load, Viral Genotype, and Cell Phenotype. *Blood* 91 : 3841-3849.
- Lerat, H., Shimizu, Y.K. & Lemon, S.M. (2000).** Cell Type-Specific Enhancement of Hepatitis C Virus Internal Ribosome Entry Site-Directed Translation due to 5'Nontranslated Region Substitutions Selected during Passage of Virus in Lymphoblastoid Cells. *Journal of Virology* 74: 7024-7031.
- Liaw, YF., Lee, CS., Tsai, SL., Liaw, BW., Chen, TC., Sheen, IS. & Chu, CM. (1995).** T-cell-mediated autologous hepatocytotoxicity in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Hepatology* 22(5) : 1368-73.
- Lindenbach, B.D. & Rice, C.M. (2005).** Unravelling hepatitis C virus replication from genome to function. *Nature* 436: 933-938.
- Lindgren, S., Braun, H.B., Michel, G., Nemeth, A., Nilsson, S. & Thomekromer, B. (1997).** Absence of LKM-I antibody reactivity in autoimmune hepatitis-C-related chronic liver disease in Sweden. Swedish Internal Medicine Liver club. *Scand J Gastroenterol* 32 : 175-8.
- Lindsay, K.L., Trépo, C., Heintges-Shiffman, M.L., Gordon, S.C., Hoefs, J.C. (2001).** A randomized, double-blind trial comparing pegylated interferon alfa-2a to interferon alfa-2b as initial treatment for chronic hepatitis C. *Hepato* 34 : 395-403.
- Lobig, M., Blanden, R.V. & Mullbacher, A. (1996).** Flavivirus-induced up-regulation of MHC class I antigens; implications for the induction of CD8+ T-cell-mediated autoimmunity. *Immunol Rev* 152 : 5-19.
- Lohmann, V., Korner, F., Herian, U. & 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 : 8416-8428.
- Lohmann, V., Korner, F., Koch, J., Herian, U., Theilmann, L. & Bartenschlager, R. (1999).** replication of subgenomic hepatitis C virus C RNAs in hepatoma cell line. *Science* 285 : 110-113.
- Lorenz, I.C., Marcotrigiano, J., Dentzer, T.G., Rice, C.M., (2006).** Structure of the catalytic domain of the hepatitis C virus NS2-3 protease. *Nature* 442: 831-835.
- Lot, F., Miguères, B. & Abiteboul, D. (2005).** Contaminations professionnelles par le VIH et le VHC chez le personnel de santé. *France. BEH*, 115 - 116.

-M-

- Macquin-Mavier, I., Hezode, C, Dhumeaux, D. (2002).** Les interférons pégylés : bases pharmacologiques
- Maillard, E. (2011).** Epidemiology, natural history and pathogenesis of hepatocellular carcinoma. *Cancer Radiother* 15: 3-6.
- Manns, M., Marcellin, P., Poordad, F., de Araujo, ES., Buti, M. & Horsmans, Y. (2014).** Simeprevir with pegylated interferon alfa 2a or 2b plus ribavirin in treatment - naive patients with chronic hepatitis C virus genotype 1 infection (QUEST-2): a randomised, double-blind, placebo-controlled phase 3 trial. *Lancet*. 384: 441-426.
- Manns, M., McHutchison, JG., Gordon, SC., Rustgi, VK., Shiffman, ML. & Reindollar, R. (2001).** Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet* 358 : 958-965.
- Marcellin P., Asselah T. & Boyer N. (2004).** Histoire naturelle de l'hépatite C. Edition E.D.K., Paris : 69-94.
- Marcellin, P. & Boyer, N. (2002).** Traitement des malades atteints d'hépatite chronique C n'ayant jamais été traité. *GastroenterolClinBiol*; 26:B194-B201
- McHutchison, J., Gordon, S., Schiff, E., Shiffman, M., Lee, W. & Rustgi, V. (1998).** Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis C. *N Engl J Med* 339 : 1485-1492.
- McLauchlan, J. (2000).** Properties of the hepatitis C virus core protein: a structural protein that modulates cellular processes. *J Viral Hepat* 7 : 2-14.
- McLauchlan, J., Lemberg, MK., Hope, G. & Martoglio, B. (2002).** Intramembrane proteolysis promotes trafficking of hepatitis C virus core protein to lipid droplets. *EMBO J* 21 : 3980-3988.
- Meertens, L., Bertaux, C. (2006).** Dragic T. Hepatitis C virus entry requires a critical
- Mejri, S., Salah, AB., Triki, H., Alaya, NB., Djebbi, A. & Dellagi K. (2005).** Contrasting patterns of hepatitis C virus infection in two regions from Tunisia. *J Med Virol* 76 : 185-93.
- Mihai, O., Cristina, O. & Dan, O. (2010).** Thrombocytopenia in Chronic Hepatitis C. *JGastrointestinLiver Dis* 19 (4), 381-385.
- Minton, EJ., Smillie, D., Neal KR-Irving, WL., Underwood, JC. & James, V. (1998).** Association between MHC class 2 alleles and clearance of circulating hepatitis C virus . Member of the Trent Hepatitis C Virus Study Group. *J Infect Dis* 178 : 39-44.
- MORICE, Y., Thiers, V. & Gault, E. (2003).** Variabilité génétique du virus de l'hépatite C. In : DÉNY P., ROULOT D. Virus de l'hépatite C. Elsevier SAS : 27-39.

-N-

- Navas, S., Martin, J. & Quiroga, JA. (2010).** Recombinant human granulocyte colony-stimulating factor reduces hepatitis C virus replication in mononuclear cells from chronic hepatitis C patients. *Cytokine* 8 (7): 313-317.
- Nelson, DR., Marousis, CG., Davis, GL., Rice, CM., Wong, J. & Houghton, M. (1997).** The role of hepatitis C virus-specific cytotoxic T lymphocyte in chronic hepatitis C. *J Immunol* 158:1473-8.
- Nemr, N., Kishk, R. & Mandour, M. (2016).** Role of ITPA gene polymorphism in ribavirin-induced anemia and thrombocytopenia in Egyptian patients with chronic hepatitis C. *Indian J Gastroenterol* (1):7-13.
- Nese, N., Gupta, R., Bui, MH. & Amin, MB. (2009).** Carcinoma in situ of the urinary bladder: review of clinicopathologic characteristics with an emphasis on aspects related to molecular diagnostic techniques and prognosis. *J Natl Compr Canc Netw* 7(1) : 48-57.
- Neumann, A.U. (1998).** Hepatitis C viral dynamics in vivo and the antiviral efficacy of interferon-[alpha] therapy. *Science* 282 :103-107.
- Nguyen, H., Sankaran, S. & Dandekar, S. (2006).** Hepatitis C virus core protein induces expression of genes regulating immune evasion and anti-apoptosis in hepatocytes. *Virology*, 1: 58-68.

-O-

- Olivier, Lortholary. & Claudine, duvivier. (2013).** processus inflammatoire et infectieux. *elsevier masson rue gamille-desmoulin SAS* :105.
- Op De Beeck, A., Cocquerel, L. & Dubuisson, J. (2001).** Biogenesis of hepatitis C virus envelope glycoproteins. *J Gen Virol* 82 : 2589-2595.
- Organisation mondiale de la Santé . (2004).** Hépatite C. Brochure N 164, Genève: OMS,

-P-

- P. Kaminsky, J. Deibener, J.F Lesesve, J.O. Humbert. (2002).** Variations des paramètres de l'hémogramme au cours des infections : 132-6.
- Paccagnini, S., Principi, N., Massironi, E., Tanzi, E., Romano, L. & Muggiasca. (1995).** Perinatal transmission and manifestation of hepatitis C virus infection in a high risk population. *Pediatr Infect Dis J* 14 : 195-199.
- Pawlotsky J.M. (2004).** Le virus de l'hépatite C.. PAWLLOTSKY J DHUMEAUX.D. Hépatite C. *Edition E.D.K* 1-17.
- Pawlotsky, J.M., (2002) .** Le virus de l'hépatite C. *Med. Sci* 18 : 303-14.
- Pawlotsky, JM. (2004).** Le virus de l'hépatite C. Hépatite C. *Edition E.D.K* : 1-17.

- Pawlotsky, JM. (2010).** Quels traitements pour le futur ? *Hepato-gastro et onco di* 17 supplément 5.
- Pawlotsky, JM. (2011).** Treatment failure resistance with direct acting antiviral drugs against the hepatitis C virus. *Hepatology*.53: 1742-1751.
- Pawlotsky, JM. (2013).** NS5A inhibitors in the treatment of hepatitis C. *J of Hepatol* 59 : 375-382.
- Pawlotsky, JM. (2014).** New Hepatitis C therapies The toolbox, strategies and challenges. *Gastroenterology* 46: 1176-1192.
- Peck-Radosavljevic, M., Wichlas, M. & Pidlich, J. (2007).** Blunted thrombocytopenia response to interferon alpha induced thrombocytopenia during treatment for hepatitis C. *Hepatology* 28(5):142-149.
- Pembrey, L., Newell, ML., & Tovo, PA. (2005).** The management of HCV infected pregnant women and their children European paediatric HCV network. *J Hepatol* 43 (3): 515- 525.
- Penin, F., Dubuisson, J., Rey, FA., Mouradpour, D. & Pawlotsky, JM. (2004).** Structural biology of hepatitis C virus. *Hepatology* 1 : 5-19.
- Pillonel, J. & Laperche, S. (2001).** Surveillance des marqueurs d'une infection par le VIH, l'HTLV et les virus des hépatites B et C chez les donneurs de sang en France de 1991 à 2000. *Bull Epidemiol Hebdo* 46 :207-209.
- Plancoulaine, S., et al. (2008).** Dissection of familial correlations in hepatitis C virus (HCV) seroprevalence suggests intrafamilial viral transmission and genetic predisposition to infection. *Gut* 57(9): 1268-74.
- Pol, S. & Zylbergberg, H. (2000).** Formes cliniques et évolution de l'hépatite C. *La revue du praticien* 50 : 1083-1088.
- Poordad, F., McCone, Jr, J., Bacon, BR., Bruno, S., Manns, MP. & Sulkowski, MS. (2011).** Boceprevir for untreated chronic HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med* 364:1195-1206.
- Popescu, CI. & Dubuisson, J. (2009).** Role of lipid metabolism in hepatitis C virus assembly and entry. *Biol Cell* 102 : 63-74.
- postinternalization step and delivery to early endosomes via clathrin-coated vesicles. *J Virol*
- Poynard, T., Marcelin, P., Lee, S., Niederau, C., Minuk, GS. & Ideo, G. (1998).** Randomised trial of interferon a2b plus ribavirin for 48 weeks or for 24 weeks versus interferon a2b plus placebo for 48 weeks for treatment of chronic infection with hepatitis C virus. *Lancet* 352 : 1426-1432.

-Q-

Qiu, D., Lemm, JA., O, Boyle dr., Sun, JH., Nower, PT., Nguyen, V., Hamann, LG., Snyder, LB., Deon, DH., Ruediger, E., Meanwell, NA., Belema, M., Gao, M. & Fridell, RA. (2011). The effects of NS5A inhibitors on NS5A phosphorylation, polyprotein processing and localization. *J Gen Virol* **92** : 2502-2511.

-R-

Radhakrishnan, S., Upadhyay Nihar, A., Mohan-Dhara, A., Kaur-Walia, H. & Zubaid, G. (2005). Late Development of Diabetes mellitus after Interferon-Alpha and Ribavirin Therapy for Chronic Hepatitis C: A .

Renou , C., Rosenthal, E. & Cohen, P. (2005). Incidence of thrombocytopenia in patients with hepatitis C virus infection receiving interferon therapy. A prospective multicenter study of 321 patients. *Hepatology* **79** (13) : 32-42.

Robertson, B. (1998). Classification, nomenclature, and database development for hepatitis C virus (HCV) and related viruses: proposals for standardization. *International. Arch. Virol* **143** : 2493- 2503.

Roccaseca, R., Ansuini , H., Vitelli, A., Meola, A., Scarselli, i E. & Acali, S. (2003). Binding of the hepatitis C virus E2 glycoprotein to CD81 is strain specific and modulated by a complex interplay between hypervariable region 1 and 2. *J Virol* **77** : 1856-1867.

Roingeard, P. & Hourieux, C. (2008). Hepatitis C virus core protein, lipid droplets and steatosis. *J Viral Hepat* **15** : 157-164.

Rouabhia, S., Sadelaoud, M., Chaabna-Mokrane, K., Toumi, W., & Abenavoli, L. (2013). **Hepatitis C virus genotypes in northeastern Algeria: A retrospective study.** *World J Hepatol* **5(7)** : 393–397.

Roudot-Thoraval, F., Bastie, A., Pawlotsky, J.M. & Dhumeaux, D. (1997). Epidemiological factors affecting the severity of hepatitis C virus-related liver disease: a French survey of 6,664 patients. The Study Group for the Prevalence and the Epidemiology of Hepatitis C Virus. *Hepatology* **26** : 485-490.

-S-

Scarselli E, Ansuini H, Cerino R, Roccasecca RM, Acali S, Filocamo G et al. The human scavenger receptor class B type I is a novel candidate receptor for the hepatitis C virus. *EMBO J* **2002**, **21**: 5017-5025.

Scarselli, E., Ansuini, H., Cerino, R., Roccasecca, RM., Acali, S. & Filocamo, G. (2002). The human scavenger receptor class B type I is a novel candidate receptor for the hepatitis C virus. *EMBO J* 21: 5017-5025.

Sheeja, M. & Krishnanand Narendra, M. Dixit. (2011). **Ribavirin-Induced Anemia in Hepatitis C Virus Patients Undergoing Combination Therapy.** *PLoS Comput Biol* 7(2).

Shepard, C.W., Finelli, L. & Alter, M.J. (2005). Global epidemiology of hepatitis C virus infection. *Lancet Infect Dis* 5 :558-567.

Sollner, TH. (2004). Intracellular and viral membrane fusion: a uniting mechanism. *Curr Opin Cell Biol* 16 : 429-435.

Soussan, P. & Le- Pendeven, C. (2010). Virus de l'hépatite C. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), *Biologie clinique* 90 :55-0115.

Steinmann, E., Penin, F., Kallis, S., Patel, A. H., Bartenschlager, R. & Pietschmann, T. (2007). Hepatitis C virus p7 protein is crucial for assembly and release of infectious virions. *PlosPathog* 3: e103.

Sulkowski, MS. (2003). **Hepatotoxicity associated with antiretroviral therapy containing HIV-1 protease inhibitors.** *Semin Liver Dis* 23(2) : 183-94.

Sulkowski, MS.(2011). **Hepatotoxicity associated with antiretroviral therapy containing HIV-1protease inhibitors.** *Semin Liver Dis*23(2):183-94.

Susser, S., Welsch, C., Wang, Y., Zettler, M., Domingues, FS., Karey, U., Hughes, E., Ralston, R., Tong, X., Herrmann, E., Zeuzem, S. & Sarrazin, C.(2009). Characterization of resistance to the protease inhibitor boceprevir in hepatitis C virus-infected patients. *Hepatology* 50(6):1709-18.

Suzuki, R., Suzuki, T., Ishii, K., Matsuura, Y. & Miyamura, T. (1999). Processing and functions of Hepatitis C virus proteins. *Intervirology* 42 : 145-152.

-T-

Tai, CL., Chi, WK., Chen, DS. & Hwang, LH. (1996). The helicase activity associated with hepatitis C virus non-structural protein 3 (NS3). *J virol* 70: 8477-8484.

Takada, N., & al. (1993). Differences in the hepatitis C virus genotypes in different countries. *JHepatol* 17(3): p. 277-83.

Targett-adams, P., J. S, Graham e., Middleton, J., Palmer, A. M., Shaw, S., Lavender, H., Brain, P., Duc Tran, T.H., Jones, L., Wakenhut, F., Stammen, B., Pryde, D., Pickford, C. & Westby, M. (2011). Small molecules targeting hepatitis C virus encoded NS5A cause subcellular redistribution of their target : insights into compound modes of action. *J Virol* 85 n°13 : 6353-6368.

Tellinghuisen, TL., Marcotrigiano, J. & Rice, CM. (2005). Structure of the zinc-binding domain of an essential component of the hepatitis C virus replicase. *Nature* 435: 374-379.

Tellinghuisen, TL., Marcotrigiano, J., Gorbalenya, AE. & Rice, CM. (2004). The NS5A protein of hepatitis C virus is a zinc metalloprotein. *J Biol Chem* 279 : 48576-48587.

Tokita, H., Okamoto, H., Tsuda, F., Song, P., Nakata, S., Chosa, T., Iizuka, H., Mishiro, S., Miyakawa, Y. & Mayumi, M. (1994). Hepatitis C virus variants from Vietnam are classifiable into the seventh, eighth, and ninth major genetic groups. *Proc Natl Acad Sci U S A* 91 : 11022-11026.

Tosone, G., Borgial, G. Gentile, R. CeriniM, C., Conte, D., Orlando R., Piazza.M. (2007). A case of pegylated interferon alpha-related diabetic ketoacidosis: can this complication be avoided?. *Acta Diabetologica* 44(3) :167-169.

Tovo, PA., Palomba, E., Ferraris, G., Principi, N., Ruga, E. & Dallacasa, P.(1997). Increased risk of maternal-infant hepatitis C virus transmission for women coinfecting with human immunodeficiency virus type 1. Italian Study Group for HCV infection in Children. *Clin Infect Dis* 25 (5): 1121- 1124.

Troesch, M., Meunier, I., Lapierre, P., Lapointe, N., Alvarez, F. & Boucher. (2006). Study of a novel hypervariable region in hepatitis C virus (HCV) E2 envelope glycoprotein. *Virology* 352 : 357-367.

-V-

Vassilaki, N. & P. Mavromara (2003). Two alternative translation mechanisms are responsible for the expression of the HCV ARFP/F/core+1 coding open reading frame. *J Biol Chem* 278(42) : 40503-13.

Von- Hahn, T., Yoon, JC., Alter, H., Rice, CM., Rehermann, B. & Balfe, P . (2007). Hepatitis C virus continuously escapes from neutralizing anti body and T-cell response during chronic infection in vivo. *Gastroenterology* 132 : 667-678.

-W-

Wasley, A. & Alter, MJ. (2000). Epidemiology of hepatitis C: geographic differences and temporal trends. *Semin Liver Dis* 20(1):1-16.

Watson, J., Hassanein, TI. & Kayali, Z. (2010). prospects for hepatitis C virus therapeutics: Boceprvir and telaprevir as adjuvant therapy to the standard antiviral regimen. *Curr Opin Investig Drugs* 4 (6): 5705-5708.

Welbourn, S. & Pause, A. (2007). The hepatitis C virus NS2/3 protease. *Curr Issues Mol Biol* 9 : 63-69.

Witteveldt, J., Evans, M. J. & Bitzegeio J. (2002). CD81 is dispensable for hepatitis C virus cell-to cell transmission in hepatoma cells. *EMBO J* 21(19) : 5017-5025.

Wolk, B., Sansonno, D., Krausslich, HG., Dammacco, F., Rice, CM., Blum, HE. & Moradpour, D. (2000). Subcellular localization, stability, and trans-cleavage competence of the hepatitis C virus NS3-NS4A complex expressed in tetracycline-regulated cell lines. *J Virol* 74 : 2293- 2304.

-X-

Xu, Z., Choi, J., Yen, TS., Lu, W., Strohecker, A., Govindarajan, S., Chien, D., Selby, M, J., Ou, J. (2001). Synthesis of a novel hepatitis C virus protein by ribosomal frameshift. *Embo J* 20(14) : 3840-8.

-Y-

Yi M, Ma Y, Yates J, Lemon SM. Trans-complementation of an NS2 defect in a late step in

-Z-

Zeuzem, S., Andreone, P., Pol, S., Lawitz, E., Diago, M. & Roberts, S. (2011). Telaprevir for retreatment of HCV infection. *N Engl J Med* 364: 2417-2428.

Zylberberg, H., Thiers, V., Lagorce, D., Squadrito, G., Leone, F., Berthelot, P., Brechot, C. & Pol, S. (1999). Epidemiological and virological analysis of couples infected with hepatitis C virus. *Gut* 45: 112-116



Université Larbi Tébessi - Tébessa

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Larbi Tébessi - Tébessa
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Déclaration sur l'honneur de non-plagiat
(à joindre obligatoirement au mémoire, remplie et signée)

Je soussigné(e),

Nom, Prénom : Touati Zahia

Régulièrement inscrit(e) en Master au département : Sciences de Nature et de la Vie

N° de carte d'étudiant : 34049409 / 2013

Année universitaire : 2017 / 2018

Domaine : Biologie Appliquée

Filière : Biologie Appliquée

Spécialité : Biologie Moléculaire et Cellulaire

Intitulé du mémoire : Etude sur la Toxicité hématologique du traitement Anti-VHC chez les patients atteints d'hépatite C

Atteste que mon mémoire est un travail original et que toutes les sources utilisées ont été indiquées dans leur totalité. Je certifie également que je n'ai ni recopié ni utilisé des idées ou des formulations tirées d'un ouvrage, article ou mémoire, en version imprimée ou électronique, sans mentionner précisément leur origine et que les citations intégrales sont signalées entre guillemets.

Sanctions en cas de plagiat prouvé :

L'étudiant sera convoqué devant le conseil de discipline, les sanctions prévues selon la gravité du plagiat sont :

- L'annulation du mémoire avec possibilité de le refaire sur un sujet différent ;
- L'exclusion d'une année du master ;
- L'exclusion définitive.

Fait à Tébessa, le 23 Mai 2018

Signature de l'étudiant(e) :



Zahia Touati



Université Larbi Tébessi - Tébessa



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Larbi Tébessi - Tébessa
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Déclaration sur l'honneur de non-plagiat
(à Joindre obligatoirement au mémoire, remplie et signée)

Je soussigné(e),

Nom, Prénom : ... *Messaïdia Regaia*

Régulièrement inscrit(e) en **Master** au département : ... *Biologie Appliquée*

N° de carte d'étudiant : ... *340.193.88.1.2013*

Année universitaire : ... *2017 / 2018*

Domaine : ... *Biologie Appliquée*

Filière : ... *Biologie Appliquée*

Spécialité : ... *Biologie Moléculaire et Cellulaire*

Intitulé du mémoire : ... *Etude sur la toxicité hématologique du traitement Anti-HCV chez les patients atteints d'Hépatite C*

Atteste que mon mémoire est un travail original et que toutes les sources utilisées ont été indiquées dans leur totalité. Je certifie également que je n'ai ni recopié ni utilisé des idées ou des formulations tirées d'un ouvrage, article ou mémoire, en version imprimée ou électronique, sans mentionner précisément leur origine et que les citations intégrales sont signalées entre guillemets.

Sanctions en cas de plagiat prouvé :

L'étudiant sera convoqué devant le conseil de discipline, les sanctions prévues selon la gravité du plagiat sont :

- L'annulation du mémoire avec possibilité de le refaire sur un sujet différent ;
- L'exclusion d'une année du master ;
- L'exclusion définitive.




Fait à Tébessa, le : ... *23 Mai 2018*

Signature de l'étudiant(e) :

Annexe 03: interpretation des résultats obtenue par la RT-PCR (genotique-1b)

Généralités Demandes Résultats Système Aide

18 avril 2018 09:14



Détails des résultats

1 sur 1

Informations relatives à l'échantillon

ID échantillon : SRH3114/17

Type d'échantillon : Patient

Emplacement : B1

Durée de l'analyse : 16/04/2018 17:16:48

Commentaire du résultat :

HCVGT0.5ml HCV All 1a 3 2 1b 1 5 4 6

Résultat : 23,98 CN

Emplacement du puits : B2

Alarmes :

Code erreur/Description :

Lot/Pérem. du réactif : 480067 - 05/12/2018

Norm/Version du dosage : 1b - 2.00

Numéro du cycle de cible : 23,98

Numéro du cycle CI : 20,49

MR cible : 0,066

MR CI : 0,196

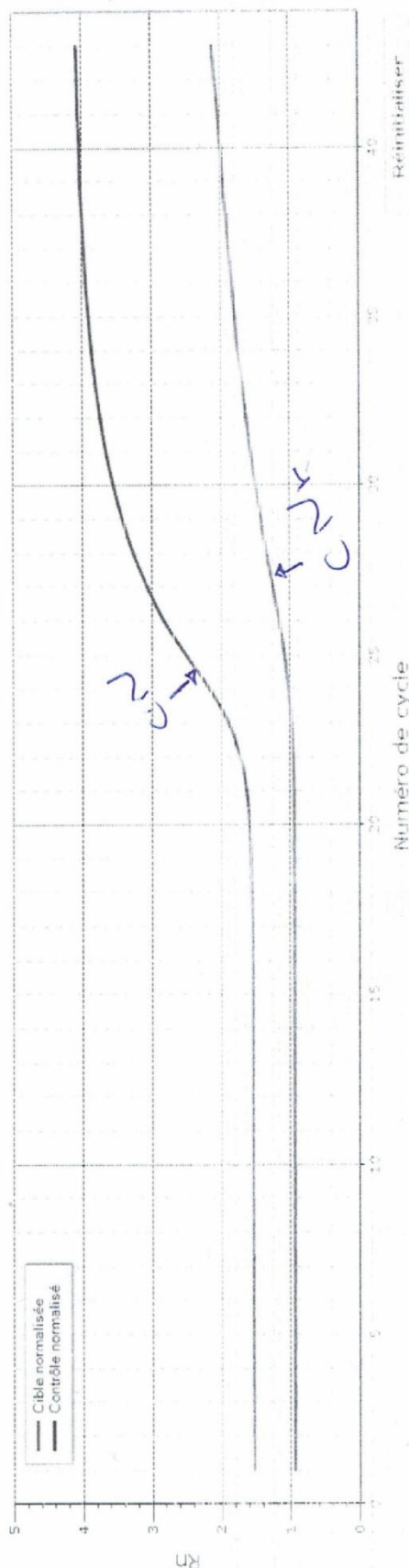
Configuration des graphes

Courbe :

Type :

Éch. en ord. :

Échelle :



Annuler

Reinitialiser

Administrateur : abbott

français

DE-CONNECTÉ

Annexe N°04 :FNS

